



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

---

---

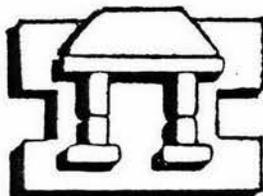
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
IZTACALA

"CARACTERIZACION DE PIGMENTOS  
FOTOSINTETICOS Y ACCESORIOS PRESENTES  
EN LA ASOCIACION *Neoburbaumia tetetzo* y *Prosopis  
laevigata*"

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
B I O L O G O  
P R E S E N T A

**CESAR ALEJANDRO ORDOÑEZ SALANUEVA**



IZTACALA

DIRECTOR M. en C. CESAR M. FLORES ORTIZ

LOS REYES IZTACALA, EDO. MEX.

2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

...la juventud acribillada odia  
odia de todo corazón  
odió en el cepo por años infinitos  
nutrió con odio su larguísimo insomnio  
lamió con odio sus heridas  
construyó odio por odio un porvenir  
odió para vivir para no delatar  
odió para afirmarse en los presagios  
para sentir su sangre sus músculos sus dientes  
odió para elegir a qué escupía a quiénes  
para recuperar su amor odió  
para salvarse del naufragio  
para sembrarse noche a noche  
para no hundirse en la flojera odió  
hizo flamear el odio como una patria  
o lo ocultó con un fervor secreto  
en el terror fue buen cómplice el odio  
uno más a vaciarla de congojas  
odió para crear para rehacerse  
trozo a trozo después de destrozada  
para mentir odio y tapar la verdad  
con un amor dulcísimo

Mario Benedetti

...nunca la vida es nuestra, es de los otros,  
la vida no es de nadie, todos somos la vida,  
soy otro cuando soy, los actos míos  
son más míos si son también de todos,  
para que pueda ser he de ser otro,  
salir de mí, buscarme en los otros,  
los otros que no son si yo no existo,  
los otros que me dan plena existencia,  
no soy, no hay yo, siempre somos nosotros,  
la vida es otra, siempre allá, más lejos,  
fuera de tí, de mí, siempre horizonte...

Octavio Paz

A Yolanda

Hace 26 años que comenzó esta historia  
y hoy es el día en que no se que decir,  
el te amo me suena frío  
el gracias me suena hipócrita.  
A veces exigente y dura,  
a veces generosa y tierna:  
aprendí de ti a caminar de frente, con dignidad  
a esforzarme día a día por ser mejor  
a saber perder, a no derrotarme  
aprendí de ti la lluvia el viento la tierra el fuego,  
aprendí de ti la noche y el día  
aprendí de ti, el tiempo.  
Se que no soy lo que tu querías  
he oído tu llanto por las noches  
he visto tus ojos llenos de dudas  
he sentido tus lagrimas en mis hombros  
he visto tu rostro de desvelo,  
se que no soy lo que tu querías  
pero gracias a ti, soy yo mismo.

A Tzinary

Mis ojos reflejaban el dolor del mundo  
tu contemplaste mi rostro desolado  
lo tomaste en tus manos como apretándolo  
en tus ojos descubrí el cariño más sincero  
con tres palabras exiliaste mi corazón al tuyo  
con un beso aliviaste mis heridas y entonces,  
volví a creer

# INDICE

RESUMEN	I
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
MARCO DE REFERENCIA	4
Clorofilas	4
○ Propiedades químicas y físicas	
○ Biosíntesis de clorofilas	
○ Distribución y localización	
Carotenoides	7
○ Propiedades químicas y físicas	
○ Biosíntesis de carotenoides	
○ Distribución y localización	
○ Función fotoprotectora	
Respuesta de las plantas al estrés por radiación	10
Fotoprotección	11
○ Prevención de absorción excesiva de luz	
○ Remoción directa de exceso de energía de excitación dentro del aparato fotoquímico	
○ Remoción de oxígeno activo formado en el aparato fotoquímico	
El ciclo de las xantofilas y la disipación termal de energía	13
○ Características del ciclo de las xantofilas	
○ Asociación entre el estado de de-epoxidación del ciclo de las xantofilas, la energía termal de disipación y la fotoprotección	
Respuesta del ciclo de las xantofilas a factores ambientales de estrés	16
○ Estrés hídrico	
○ Salinidad	
○ Estrés nutricional	
○ Temperatura	
○ Respuesta general a la alta radiación	

Especies botánicas	19
○ <i>Prosopis</i>	
○ <i>Neobuxbaumia</i>	
AREA DE ESTUDIO	22
OBJETIVOS	24
METODOLOGÍA	25
RESULTADOS	28
○ Parámetros ambientales	28
○ Composición de pigmentos en luz y sombra para <i>Neobuxbaumia tetetzo</i> en isla	29
○ Composición de pigmentos en luz y sombra para <i>Neobuxbaumia tetetzo</i> en a	33
○ Composición de pigmentos en luz y sombra para <i>Prosopis laevigata</i> en aislamient	36
○ Composición de pigmentos en luz y sombra para <i>Prosopis laevigata</i> en asociación	40
○ Composición de pigmentos en luz y sombra para <i>Prosopis laevigata</i> desarrollado en las terrazas	43
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	46
CONCLUSIONES	52
REFERENCIAS	53

---

## RESUMEN

Las plantas que se desarrollan en ambientes áridos y semiáridos están expuestas a múltiples factores de estrés, entre los cuales sobresale el exceso de irradiación predominante en éstas comunidades, durante el día y a lo largo del año. Para enfrentar éstas condiciones desfavorables las plantas han desarrollado diversas estrategias, una de las más importantes es la disipación térmica de energía a través del ciclo de las xantofilas. El funcionamiento de éste ciclo está influenciado por diferentes factores ambientales; la asociación que establecen muchas especies de cactáceas con leguminosas genera diferentes condiciones de irradiación, por lo cual la sombra producida bajo el docel de los arbustos puede tener una respuesta fisiológica que se exprese a través del ciclo de las xantofilas y favorezca a las cactáceas.

Se tomaron muestras de *N. tetetzo* y *P. laevigata* desarrolladas en un área conservada y un área perturbada del valle de Zapotitlán de las Salinas Puebla, a lo largo de un ciclo diurno y considerando condiciones de luz y sombra. Los pigmentos fueron preservados en N líquido y analizados por HPLC.

Se identificaron ocho pigmentos diferentes: clorofila a, clorofila b,  $\beta$ -caroteno, luteína, neoxantina, violoxantina, anteraxantina y zeaxantina. El pigmento más abundante fue clorofila a seguido de luteína, en todas las especies y condiciones; la proporción de clorofila a/b osciló entre 2.2 y 3.1 en las diferentes condiciones de desarrollo; el ciclo de las xantofilas mostró una alta sensibilidad a las condiciones de irradiación expuestas, encontrándose que las especies en asociación y en condición de sombra presentaron estados de epoxidación menos desarrollados. Estos resultados sugieren que la asociación brinda condiciones más favorables para el desarrollo de las plantas aún en etapas avanzadas de su crecimiento.

## INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

Una parte importante de nuestro territorio y del mundo presenta daños severos en su ambiente natural, especialmente como resultado del mal uso de los recursos naturales. En muchas regiones, la vegetación y demás componentes silvestres que habitan, se reproducen e interactúan en ella, han desaparecido o están en vías de hacerlo. Las consecuencias de la devastación de los sistemas naturales en el mundo no son todavía bien conocidas aunque, recientemente, se ha creado una conciencia y una preocupación general sobre aspectos como sobrepoblación humana, destrucción de la capa de ozono, lluvia ácida, acumulación de compuestos químicos tóxicos, erosión edáfica y genética, etc. (Mostafa et al., 1992).

En México el 53% del territorio está cubierto por zonas áridas y semiáridas (Rzedowski, 1978). Estos ecosistemas son reconocidos por su fragilidad al deterioro, conociéndose que a nivel mundial al menos seis millones de hectáreas se pierden por año en zonas áridas y semiáridas y que para 1992 el 70% de los 5172 millones de hectáreas ocupadas por zonas áridas en el mundo (excluyendo a los desiertos hiperáridos) estaban deterioradas, principalmente por aridificación natural por cambios climáticos globales y por sobreexplotación o explotación inadecuada (Mostafa, et.al. 1992) o por la conjunción de ambos factores. Es además, en zonas áridas en donde las estadísticas del proceso de deterioro son más escasas (Mostafa et al., 1992) y en donde menos se conocen los procesos que llevan al deterioro y las formas de revertirlo.

Dentro de las zonas áridas del país, el Valle de Tehuacán-Cuicatlán situado en el centro de México es considerado como un centro de mega diversidad y endemismo a nivel mundial por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN). La flora de este lugar esta compuesta por entre 2700 y 3000 especies de plantas vasculares de las cuales 30% son endémicas a la región (Villaseñor et al., 1990; Dávila et al., 1993).

En el valle se ha reconocido la presencia de al menos seis grupos étnicos y tiene una historia de ocupación humana que data de tiempos remotos (Byers, 1967; Casas y Caballero, 1995). En la actualidad es una zona densamente poblada en donde las principales actividades económicas son la ganadería extensiva y la agricultura de temporal. El Valle presenta grandes extensiones de tierra conservada donde el uso ha sido mínimo, tierras utilizadas por los pobladores locales con propósito de recolección de productos animales y vegetales, tierras utilizadas para la ganadería extensiva, tierras cultivadas productivas y degradadas, así como por terrenos con diversos grados de degradación natural.

El establecimiento de un individuo en zonas áridas y semiáridas ocurre bajo condiciones impredecibles: lluvia, altas temperaturas y bajo contenido de agua en el suelo. Las etapas críticas en la larga vida de una cactácea lo componen la producción de semillas, la dispersión de las mismas y el establecimiento de nuevos individuos, lo que implica la germinación de la semilla y su sobrevivencia durante los primeros años de vida. Por tal motivo, la germinación y sobrevivencia de las cactáceas ocurre bajo la copa de arbustos y árboles denominados plantas nodrizas, por su capacidad de modificar el microambiente por debajo de su copa y favorecer la inserción de cactus (Valiente-Banuet y Ezcurra, 1991).

Muchas explicaciones han sido dadas para explicar este fenómeno: la facilitación del establecimiento de plántulas por reducción de la radiación solar y la baja temperatura del suelo debajo de la planta nodriza; la protección de las plántulas durante periodos fríos y el alto contenido de nutrientes debajo del dosel, pueden aumentar la sobrevivencia de las plántulas debajo de los arbustos; la germinación de las semillas puede ser incrementada por la acumulación de material fino arrastrado por el viento, modificando la estructura del suelo debajo de la planta nodriza. Esta asociación aparentemente contribuye a un proceso dinámico de mosaico en el cual, los espacios abiertos son inicialmente colonizados por arbustos perennes; más tarde estos arbustos facilitan el establecimiento de las plántulas de cactáceas debajo de sus copas; cuando el cactus crece la planta nodriza muere y el cactus adulto se desarrolla sin asociación; la exclusión local del arbusto por la cactácea es debido a una interacción competitiva (Valiente-Banuet y Ezcurra, 1991)

Las condiciones ambientales extremas que se presentan a lo largo del transcurso del año aunadas al deterioro ambiental, afectan de manera directa la respuesta fisiológica de las plantas modificando los procesos metabólicos de ésta, tal es el caso de la fotosíntesis.

El impacto del ambiente en la fotosíntesis es de particular importancia debido a que esta determina la productividad de la planta y del ecosistema (Taiz-Zeiger, 1991). La estrecha relación entre el funcionamiento del aparato fotosintético y los pigmentos de la planta (clorofilas y carotenos), determina que los factores ambientales que afectan a la fotosíntesis afecten también a estos pigmentos (Young -Britton, 1990), provocando cambios en su contenido y composición dado que se han asociado a diversos estados de estrés. Como resultado, las plantas desarrollan diferentes estrategias para poder enfrentar estas condiciones adversas, dándose cambios a nivel morfológico y metabólico, de manera que el grado de perturbación repercute directamente en los procesos fisiológicos y bioquímicos de estos organismos. Bajo estas condiciones uno

de los principales agentes de estrés para las plantas es el exceso de radiación, que se presenta durante el día y a lo largo del año, de manera que al no poder utilizar toda la energía absorbida por los pigmentos fotosintéticos se presentan procesos de disipación térmica, entre los cuales la conversión cíclica de tres xantofilas resulta ser uno de los más eficientes.

Como modelo de investigación, se ha decidido utilizar dos especies que se han reconocido como dominantes de la vegetación presente en algunas partes del valle, las cuales son *Neobuxbaumia tetetzo* (tetecho) y *Prosopis laevigata* (mezquite). Además que ecológicamente ambas especies se asocian en el proceso que ha sido denominado como nodrizaje.

## MARCO DE REFERENCIA

Los vegetales contienen diferentes clases de pigmentos: las clorofilas verdes, los carotenoides amarillos, rojos y naranjas; las antocianinas rojas, azules o violetas; y las betalainas rojo-violeta (Gross, 1991). Los más importantes son las clorofilas, las cuales juegan un papel esencial en los procesos de fotosíntesis. Asociados a éstas los carotenoides aparte de su función fotosintética, tienen gran importancia en la nutrición ya que son precursores de la vitamina A (Goodwin, 1988).

### Clorofilas

#### *Propiedades Químicas y Físicas*

Se pueden distinguir por lo menos siete tipos de clorofilas: las clorofilas a, b, c, d y e; la bacterioclorofila a, bacterioclorofila b y clorofila de clorobio (Devlin, 1980). Todas las plantas superiores contienen dos clorofilas clorofila a, y clorofila b (Figura 1). Estas son metaloporfirinas, ciclotetrapirroles conjugados, presentando varios grupos sustituyentes y un ion magnesio no intercambiable (Goodwin, 1988). A modo de larga cola unida a uno de los anillos del pirrol se encuentra un alcohol de cadena larga, el fitol, éste se esterifica con el grupo carboxilo en el átomo C 7 de la molécula de clorofila y contiene un enlace doble (Devlin, 1980). La clorofila b difiere de la clorofila a, solo, en que tiene un grupo metilo substituido por un grupo aldehído en el carbono C 3 (Goodwin, 1988).

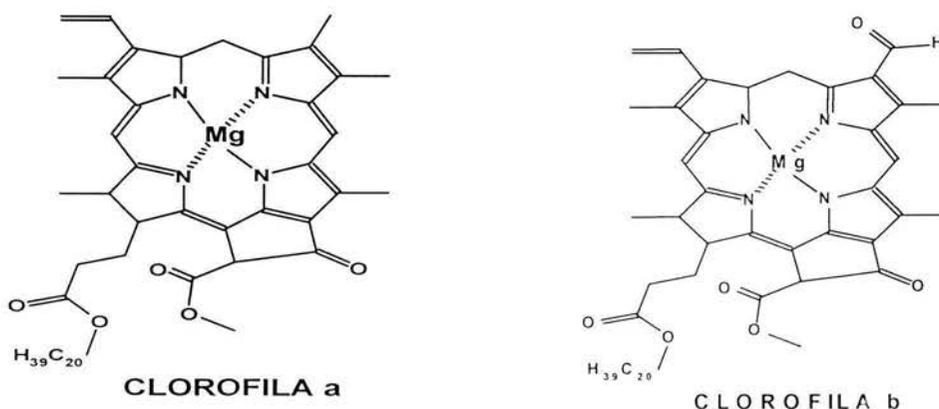


Figura1. Estructura química de clorofilas a y b.

Las clorofilas son de color verde a causa de la fuerte absorción en la región azul y roja del espectro visible. La pequeña diferencia en la composición de las clorofilas

ocasiona cambios en la absorción espectral. La absorción máxima para la clorofila a ocurre a los 430 y 662 nm, presentando una absorción menor a los 410 nm. En la clorofila b, la absorción máxima se presenta en los 453 y 642 nm. La posición de la absorción máxima varía con la naturaleza del solvente (Gross, 1991).

La presencia del fitol en las clorofilas confiere a la molécula propiedades hidrofóbicas, solubilidad en solventes orgánicos polares tales como dietil éter, acetona, cloroformo y alcoholes. El fitol es fácilmente removido por hidrólisis alcalina del éster, para dar sales solubles en agua (Goodwin, 1988).

### *Biosíntesis de clorofila*

Existe consenso general respecto a que la succinil-Co A, una sustancia intermedia del ciclo de Krebs, y la glicina un aminoácido, constituyen el principio de la cadena de biosíntesis que conduce a la formación de la clorofila (Devlin, 1980), como se describe a continuación.

1.-Formación de ácido d-aminolevulínico (ALA). La condensación de la glicina y el succinil-Co A conducen a la formación del ácido  $\gamma$ -amino- $\beta$ -cetoadípico, una sustancia inestable que por descarboxilación produce ALA. La reacción requiere la presencia como cofactor del piridoxal-fosfato y es catalizada por la enzima ALA-sintetasa (Devlin, 1980).

2.-Formación del pirrol precursor. La enzima ALA-deshidrasa cataliza la condensación de dos moléculas de ALA que se unen para formar porfobilinógeno, un monopirrol. En este paso se desprenden dos moléculas de agua (Goodwin, 1988).

3.-Formación de un tetrapirrol cíclico. Cuatro moléculas de porfobilinógeno se combinan primeramente para formar un tetrapirrol lineal el cual luego es ciclizado y forma el tetrapirrol cíclico característico o esqueleto de porfirinógeno. El producto de este proceso es el uroporfirinógeno III, la formación del cual requiere de algunos rearrreglos de los anillos del pirrol en el macrociclo (Goodwin, 1988). Las enzimas uroporfirinógeno-sintetasa y uroporfirinógeno III-cosintetasa catalizan esta reacción (Devlin, 1980).

4.-Formación de coproporfirinógeno. En una serie de reacciones, las moléculas de ácido acético presentes en los anillos de las cadenas del uroporfirinógeno III son descarboxiladas para formar cuatro grupos metilo (Goodwin, 1988). Esta reacción es catalizada por la uroporfirinógeno-descarboxilasa (Devlin, 1980).

5.-Formación de protoporfirinógeno IX. El coproporfirinógeno III es transformado, convirtiéndose en protoporfirinógeno por descarboxilación oxidativa de los ácidos

propanóicos presentes en las cadenas de los anillos 1 y 2 de la molécula de clorofila formando grupos vinilo (Goodwin, 1988). La enzima catalizante es la carboxilasa oxidativa del coproporfinógeno (Devlin, 1980).

6.-Oxidación del macrociclo y formación de protoporfirina IX. El sistema de protoporfirinógeno es deshidrogenado, seis átomos de hidrógeno son removidos para formar la protoporfirina (Goodwin, 1988).

7.-Incorporación de magnesio. Los intermediarios tempranos, como el protoporfirinógeno IX no son quelantes efectivos de los iones metálicos, las especies oxidadas, protoporfirinas son un sustrato apropiado para la inserción de iones magnesio. Aunque la inserción química puede ser activada con dificultad, el producto es Mg-protoporfirina IX (Goodwin, 1988).

8.-Formación de protoclorofilida a y clorofilida a. La enzima Mg-protoporfirina-metil-esterasa cataliza la adición de un grupo metilo a la Mg-protoporfirina IX, para formar protoporfirina-IX-monoetil-éster (Devlin, 1980). Diferentes enzimas actúan en la modificación de los sustituyentes en los anillos 3 y 4 de la molécula de clorofila. El paso final es la fotorreducción de protoclorofilida a en clorofilida a, el cual normalmente no se cataliza en el tejido etiolado (Goodwin, 1988).

9.-Esterificación con fitol. El paso final en la biosíntesis de clorofila a es probablemente la esterificación con fitol del ácido propanoico residente en el anillo 4 de la clorofilida a. Todavía no está establecido si esta reacción está catalizada por la clorofilasa. Esta esterificación final confiere propiedades lipofílicas en la molécula de clorofila (Goodwin, 1988).

### *Distribución y localización*

Todas las partes verdes de las plantas superiores contienen los dos tipos de clorofila, a y b; aunque estas son diferentes en las cantidades en que se presentan. Las plantas que crecen expuestas a cantidades de luz altas tienen una proporción de clorofila a y b elevada (5-6:1); en comparación con las plantas que crecen naturalmente en la sombra, la proporción de clorofilas es (2-3:1). En términos de peso seco los niveles contenidos varían entre 0.2 y 0.8% de clorofila a (Gross, 1991). Las clorofilas están enteramente confinadas a los cloroplastos, en donde se localizan las lamelas, éstas constituyen arriba del 5% en peso seco del cloroplasto. La proporción normal de clorofila a/b en plantas superiores es de (3:1). (Goodwin, 1988).

## Carotenoides

Los carotenoides de color amarillo, anaranjado y rojo están entre los más extendidos e importantes pigmentos vegetales. Estos son fundamentales para las plantas superiores, algas, hongos y bacterias; tanto en tejido fotosintético como en tejido no fotosintético acompañan a las clorofilas. A diferencia de las antocianinas y las clorofilas, los carotenoides son también fundamentales en los animales, ya que son responsables del color de los peces, pájaros, insectos y otros invertebrados. Puesto que los carotenoides son sintetizados solo en las plantas, estas constituyen la fuente de los carotenoides animales (Gross, 1991).

### Propiedades Químicas y Físicas

Los carotenoides son polienos isoprenoides formados por la unión de ocho unidades de isopreno C5. Las unidades de isopreno son vinculadas regularmente de manera cabeza-cola excepto en el centro de la molécula, donde el orden es invertido cola-cola para que la molécula sea simétrica. Como resultado, los dos grupos metilo más cercanos al centro de la cadena de polieno son separados por seis átomos de carbono, y los otros grupos metilo por cinco átomos de carbono, conformándose la molécula de glicofeno. De esta estructura básica, casi todos los otros carotenoides pueden ser derivados por hidrogenación, oxidación, ciclización o una combinación de estos procesos (Gross, 1991).

Los carotenoides pueden ser divididos en dos grupos (Figura 2). Carotenoides hidrocarbonados ( $C_{40}H_{36}$ ) llamados carotenos; y sus derivados oxigenados, reciben el nombre de xantofilas (Gross, 1991).

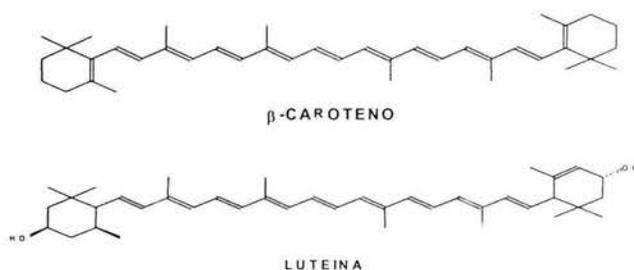


Figura 2.- Estructura química de carotenos ( $\beta$ -caroteno) y xantofilas (luteina).

Las xantofilas son más abundantes en la naturaleza que los carotenos, y en las hojas en pleno crecimiento pueden superar la concentración de carotenos y llegar a una proporción de 2:1 (Goodwin, 1988).

Los carotenoides son lípidos y son por tanto, solubles en otros lípidos y en solventes grasos, tales como acetona, alcohol, dietil-éter y cloroformo. Los carotenos son solubles en solventes apolares, tales como éter de petróleo y hexanos, y las xantofilas se disuelven en solventes polares como los alcoholes. Excepto por los carotenos más insaturados (fitoeno, fitoflueno y  $\zeta$ -caroteno), los carotenoides son sólidos a temperatura ambiente y pueden cristalizarse en varias formas coloreándose entre rojo-anaranjado a violeta oscuro (Gross, 1991).

Los carotenoides pueden absorber luz en la región ultravioleta (UV) y visible del espectro; el resto es transmitida o reflejada. El rasgo estructural responsable de la absorción de luz es el cromóforo, el cual en los carotenoides es el sistema de dobles enlaces conjugados. Cada carotenoide es caracterizado por un espectro de absorción de luz. La posición de la absorción máxima está en función del número de dobles enlaces conjugados, la posición de la absorción máxima es afectada por la longitud del cromóforo y la posición del doble enlace en el extremo de la cadena o del anillo (Gross, 1991).

Todos los compuestos carotenoides tienen típicamente tres picos de absorción en el espectro, con buena definición, máxima definición y mínima definición (estructura fina). La introducción de un grupo carbonilo en conjunción con el sistema de polieno produce un cambio batocrómico y la pérdida de la estructura fina. La influencia de otros sustituyentes tales como OH es imperceptible; por ejemplo,  $\beta$ -caroteno, criptoxantina, y zeaxantina tienen el mismo espectro de absorción. Los solventes usados influyen en la posición de la absorción máxima; el éter de petróleo y el etanol tiene poco o ningún efecto, el cloroformo y el benceno producen un cambio batocrómico de 15 nm (Gross, 1991).

### *Biosíntesis de carotenoides*

La biosíntesis de los carotenoides por ácido mevalónico parece tener lugar dentro de los cloroplastos. Distintas reacciones de biosíntesis pueden ser realizadas con cloroplastos aislados o con cloroplastos no aislados por preparación de enzimas (Goodwin, 1988).

Los primeros pasos en la ruta son comúnmente encaminados a la biosíntesis de terpenos en general.

1.-Formación del ácido mevalónico (MVA). El primer terpeno precursor reconocido es el ácido mevalónico, el cual es formado por tres moléculas de acetil-CoA, entrando este terpeno a la ruta de biosíntesis (Goodwin, 1988).

2.-Formación de geranylgeranyl pirofosfato. El MVA es trifosforilado con ATP a través de una enzima cinasa para dar MVA-3fosfato-5-pirofosfato, el cual es descarboxilado para dar isopentenil pirofosfato (IPP). Esta molécula está en equilibrio con su isómero dimetilalil pirofosfato (DMAPP). Estas son las 5 unidades de carbono de las cuales se constituyen todos los compuestos terpenoides. El DMAPP y IPP reaccionan para dar un compuesto de diez carbonos, geranylpirofosfato (GPP); entonces el GPP es condensado con una molécula más de IPP para dar el farnesil pirofosfato (FPP) de 15 carbonos, el cual con IPP da el Geranylgeranyl pirofosfato (GGPP) de 20 carbonos. El GGPP no es el único precursor de los carotenoides, también pueden formarse a través de la molécula de fitol constituyente de la molécula de clorofila (Goodwin, 1988).

3.-Formación de fitoeno. La primera reacción en la vía guiada solo para carotenoides es la condensación cola-cola de dos moléculas de GGPP para dar el primer compuesto de cuarenta carbonos fitoeno (Goodwin, 1988).

4.-Desaturación de fitoeno. El fitoeno tiene el esqueleto de 40 C requerido para los carotenoides, el cual es modificado primeramente por una serie de 4 reacciones de saturación, en cada una de las cuales dos átomos de hidrógeno son removidos y un doble enlace es insertado en conjugación con el sistema principal de polieno. La desaturación ocurre alternativamente en dos partes de la molécula para dar fitoflueno,  $\zeta$ -caroteno, neurosporeno y finalmente licopeno (Goodwin, 1988).

5.-Ciclización. Los carotenoides cíclicos son probablemente formados por ciclización de los extremos de la molécula de licopeno. Los anillos a y b probablemente se forman independientemente (Goodwin, 1988).

6.-Formación de xantofilas. La introducción de oxígeno en la biosíntesis de xantofila es un paso tardío, las xantofilas son por tanto, formadas por los carotenos. El oxígeno de los grupos hidroxilo y epoxi vienen del oxígeno molecular más que del agua (Goodwin, 1988).

### *Distribución y localización*

Las hojas verdes de todas las plantas contienen los mismos carotenoides principales y varían en los carotenoides menores. Las cantidades relativas de los pigmentos pueden variar según la especie pero predominan generalmente las xantofilas. El carotenoide

principal es luteína. Las hojas etioladas contienen pequeñas cantidades o no contienen carotenos, pero pueden tener cantidades apreciables de xantofilas (Goodwin, 1988).

Los carotenoides en el tejido de las plantas verdes están confinados como las clorofilas a los cloroplastos, donde estos constituyen alrededor del 0.7% en peso seco del cloroplasto, y se encuentran en las lamelas (Goodwin, 1988).

### *Función fotoprotectora*

Se han establecido dos papeles distintos desempeñados por los carotenoides en la fotosíntesis: 1. Protegen contra la fotooxidación de la clorofila, y 2. Absorben y transfieren energía lumínica a la clorofila a (Goodwin, 1988).

### **Respuestas de las plantas al estrés por radiación**

Las plantas están sometidas frecuentemente a situaciones desfavorables para su desarrollo y funcionamiento óptimos ocasionadas por alteraciones en el medio ambiente. Este conjunto de situaciones desfavorables se conoce como estrés medio ambiental (Azcon-Bieto y Talon, 1993).

Las plantas pueden verse expuestas a condiciones de estrés por exceso de radiación, tanto ultravioleta (UV) como visible. El exceso de radiación UV provoca mutaciones en el material genético. Entre las adaptaciones de las plantas a este estrés se encuentra la síntesis de pigmentos flavonoides, los cuales absorben este tipo de radiación. En el caso de exceso de radiación visible, la fotosíntesis no consume toda la energía absorbida por las clorofilas, por lo que hay un exceso de energía almacenada que puede desencadenar reacciones oxidativas en los centros de reacción del aparato fotosintético. El resultado final es una reducción de la fotosíntesis (fotoinhibición de la fotosíntesis) y, en último término, la destrucción de los pigmentos fotosintéticos (fotooxidación). Las adaptaciones de las plantas al exceso de radiación visible pueden encontrarse tanto a nivel morfológico como metabólico. Las adaptaciones morfológicas consisten en: el movimiento de los cloroplastos dentro de las células, el movimiento de las hojas de modo que se reduce su superficie de exposición a la luz, el desarrollo de superficies reflectantes ricas en ceras o sales y el marchitamiento y enrollamiento de las hojas. Los mecanismos metabólicos se basan en la disipación de la energía directamente de las clorofilas, mediante el ciclo de las xantofilas, y en la eliminación de las especies de oxígeno activas producidas en las reacciones fotooxidativas (Azcon-Bieto y Talon, 1993).

Las plantas muestran un amplio espectro de respuestas al incremento en la Densidad de Flujo de fotones (DFF). En cierto rango de DFF, un incremento en la absorción de luz por parte de las clorofilas da como resultado un incremento en la fijación fotosintética de CO<sub>2</sub>. Por encima de este rango de DFF, la fotosíntesis es incapaz de utilizar toda la energía absorbida por la clorofila. Entonces, varios mecanismos operan para proteger el aparato fotosintético contra la acumulación excesiva de energía. Sin embargo, siempre que la utilización y disipación de energía a través de la fotosíntesis, en combinación con los procesos foto protectivos, sean insuficientes por tratarse de absorción de luz excesiva, el aparato fotosintético puede ser dañado (Adams III y Demmig-Adams, 1992).

La aclimatación a la sombra permite, en organismos que tienen bajas capacidades no solo para el transporte fotosintético de electrones sino también para la fotoprotección, respuestas tales como la disipación térmica de la energía. Estos y otros argumentos sustentan la inactivación de los procesos fotosintéticos a muy bajos niveles de DFF que están aclimatados a la luz del sol. En contraste, en la ausencia de otros factores de estrés las hojas expuestas al sol pueden ser capaces de disipar toda la luz absorbida, a través de la combinación de altas proporciones de transporte fotosintético de electrones y altas proporciones de disipación térmica de energía (Adams III y Demmig-Adams, 1992).

## **Fotoprotección**

Prevención de absorción excesiva de luz.

Mientras la fotoprotección proporcionada a través de la eliminación de energía de excitación excesiva (disipación térmica) en el aparato fotoquímico, y la remoción del oxígeno activo parecen estar presentes en todas las plantas superiores, los mecanismos por los cuales la absorción de luz por las clorofilas decremента es variada y específica para cada especie. Algunas plantas pueden alterar el ángulo de la hoja por intervalos de tiempo cortos, una acción que puede reducir la absorción de luz cuando la hoja se posiciona paralelamente a la incidencia de luz (Björkman y Powles, 1981 y Koller, 1986). Tales movimientos pueden hacerse persistentes bajo condiciones de estrés de calor o de sequía (Forseth y Ehleringer, 1980; Gamón y Pearcy, 1989; Ludlow y Björkman, 1984.).

Los intervalos de exposición prolongados a alta irradiación, permiten el desarrollo de hojas con ángulos que minimizan la absorción de luz; otra alternativa es que las

hojas pueden desarrollar grandes superficies reflectantes (Ehleringer, 1988). La absorción de luz (excesiva) dentro de la hoja por compuestos pantalla (pigmentos) diferentes a las clorofilas puede también reducir la cantidad de luz absorbida por la clorofila, pero si la acumulación de tales compuestos es un mecanismo foto protector, no está todavía bien determinado (Adams III y Demmig-Adams, 1992).

Remoción directa de exceso de energía de excitación dentro del sistema de captura de luz

Arriba de la absorción de luz que puede ser utilizada a través del transporte fotosintético de electrones, diferentes mecanismos foto protectivos pueden prevenir el daño potencial por la acumulación de energía de excitación en el aparato fotoquímico. Uno de los descubrimientos más importantes es la disipación térmica de energía excesiva dentro del sistema fotoquímico, presumiblemente en los pigmentos clorofílicos (Bilger y Björkman, 1991; Björkman y Demmig, 1987; Demmig-Adams et al., 1990; Demmig-Adams, et al., 1989; Genty et al., 1989; Gilmore y Yamamoto, 1991; Rees et al., 1989). Estos procesos de disipación, involucran al Ciclo de las Xantofilas (CX), o mejor dicho el estado de des epoxidación del ciclo de las xantofilas, especialmente zeaxantina (Schreiber y Neubauer, 1987; Rees y Horton, 1990).

Remoción de oxígeno activo formado en el aparato fotoquímico

Principalmente dos formas de oxígeno activo están involucradas en el comienzo de la fotooxidación: el radical aniónico superóxido  $O_2^-$ , y el oxígeno simple  $O_2$ . Varios antioxidantes muy importantes que se reducen con ascorbato y con glutatión pueden estar involucrados en la de-activación de estas especies por múltiples caminos (Asada y Takahashi, 1987).

La reducción directa de  $O_2$  por el PSI resulta en la formación del radical aniónico superóxido  $O_2^-$ . La enzima superoxidasa convierte el  $O_2^-$  a peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), que puede subsecuentemente reaccionar con ascorbato vía ascorbato-peroxidasa para formar agua y oxígeno. El ascorbato puede ser oxidado de dos maneras, primero el radical mono deshidroascorbato es reducido directamente por NADPH (vía glutatión-reductasa), y segundo, el deshidroascorbato es reducido (vía deshidroascorbato reductasa) con glutatión, que a su vez es reducido por NADPH vía glutatión-reductasa (Asada y Takahashi, 1987; Foyer et al., 1991). Varios componentes del metabolismo de ascorbato y glutatión se pueden encontrar al incrementar la

cantidad de irradiación sin llegar a irradiación excesiva, en hojas aclimatadas a tales condiciones, particularmente a temperaturas frías, pero también bajo la influencia de estrés hídrico (Gamble y Burke, 1984). Además, los cloroplastos de hojas que se desarrollan en alta irradiación ambiental, poseen grandes cantidades de ascorbato y de varias enzimas involucradas en el metabolismo del ascorbato que se encuentra en hojas desarrolladas en la sombra (Foyer et al., 1991, Gillham y Dodge, 1987).

El ascorbato no solamente reduce el peróxido de hidrógeno, sino también reduce la violaxantina a anteraxantina y zeaxantina en el ciclo de las xantofilas (Yamamoto, 1979; Siefermann, 1977). Así, además de mantener una tasa de flujo electrónico lineal vía estos consumos de NADPH y  $H_2O_2$ , el ascorbato facilita la formación de zeaxantina y así el desarrollo de la energía térmica de disipación. Recientemente se ha sugerido que la reacción puede también estar involucrada en la disipación térmica de energía. (Schreiber et al., 1991; Neubauer y Yamamoto, 1991).

La función foto protectora de los carotenoides en la fotosíntesis está limitada a la desexcitación de  $O_2$  ó del triplete excitado de clorofila, directamente (Krinsky, 1979; Siefermann, 1987). Las hojas que se desarrollan en alta irradiación, poseen, un alto contenido total de carotenoides en comparación con las hojas que se desarrollan en la sombra. Adams III y Demmig-Adams (1992), sugieren que los carotenoides tienen otra función, es decir, un proceso que involucra al ciclo de las xantofilas siguiendo a la desexcitación de las moléculas de clorofila, que se encuentran en estado excitado, en el estado excitado simple a través de la zeaxantina.

## **El ciclo de las xantofilas y la disipación térmica de la energía.**

### Características del ciclo de las xantofilas

El decremento en el pH del lumen bajo exceso de irradiación, activa la interconversión de pigmentos xantofílicos específicos (Figura 3). Esta interconversión ocurre en una escala de tiempo de minutos como parte del ciclo de las xantofilas. En plantas superiores, el ciclo de las xantofilas depende de la conversión de violaxantina, una xantofila con dos grupos epóxidos, primero a anteraxantina (con un grupo epóxido) y después a zeaxantina (sin epóxidos). La reacción desepoxidativa es catalizada por la enzima violaxantina desepoxidasa (VDE), esta enzima es una proteína de 43KD que se localiza en el lumen tilacoidal (Bugos y Yamamoto, 1996), cuando el lumen se acidifica la VDE se asocia a la membrana tilacoidal (Hager y Holocher, 1994) en donde puede interactuar con su sustrato violaxantina. VDE usa ácido ascórbico para reducir el grupo

epóxido y tiene una  $K_m$  que esta fuertemente influenciada por el pH (Bratt et al., 1995). Una enzima diferente, la zeaxantina epoxidasa (ZE), cataliza la reacción de epoxidación que completa el ciclo de las xantofilas. ZE es una enzima flavin adenin dinucleótido dependiente que usa ferredoxina y después anteraxantina (Bouvier et al., 1996). A causa de que su pH óptimo es de 8, la ZE se encuentra localizada en el lado del estroma de la membrana tilacoidal y es constitutivamente activa. El nivel de zeaxantina está, sin embargo, determinado por la actividad de VDE comparada con la actividad de ZE (Müller et al., 2001).

La dependencia de la reacción del ciclo de las xantofilas en la luz es consecuencia de la regulación, y no la bioquímica del ciclo (Siefermann, 1977; Yamamoto, 1979; Hager, 1980). Esta regulación es ejercida por diferentes factores asociados con el transporte fotosintético de electrones, el cual provoca una acumulación de zeaxantina bajo un exceso de luz y la reconversión de zeaxantina a violaxantina regresando sobre niveles de luz no excesivos. Cuando la DFF incrementa, no hay desepoxidación de violaxantina, toda la luz absorbida es utilizada a través del transporte fotosintético de electrones. La violaxantina empieza a ser convertida a anteraxantina y zeaxantina a la DFF en la cual la fotosíntesis no puede usar toda la energía de excitación. El contenido de zeaxantina en hojas muestra un incremento en el grado del DFF (Bilger et al., 1989; Demmig, et al., 1988).

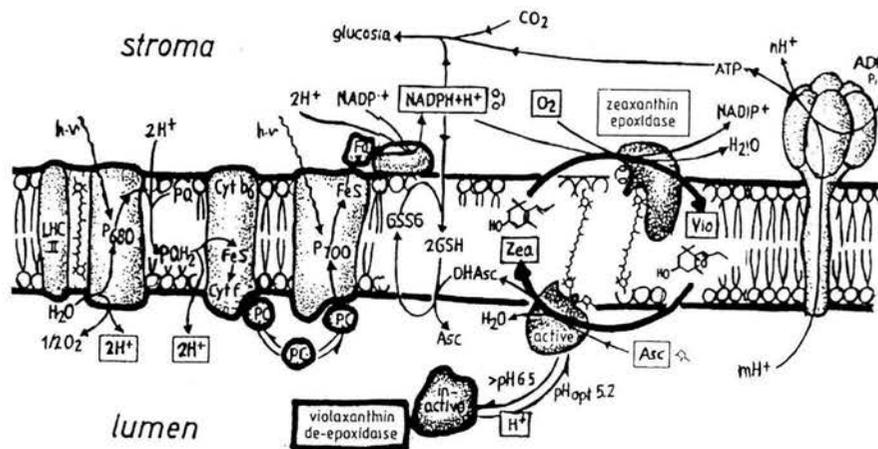


Figura 3. Localización y funcionamiento del ciclo de las xantofilas en la membrana tilacoidal. La enzima violaxantin desepoxidasa es móvil en la membrana tilacoidal a un pH de 6.5 y su pH óptimo de actividad es a 5.2; su sustrato lipofílico violaxantina (vio) puede entonces ser transformado a zeaxantina (zea) con la adición del cosubstrato ascorbato (Asc). El producto oxidado dehydroascorbato (DHAsc) es re-reducido por NADPH via glutatión (GSH). La transformación de Zeaxantina a Violaxantina via Anteraxantina es catalizada por la enzima Zea-epoxidasa, usando NADPH y  $O_2$  como cosubstratos. La actividad de la Vio desepoxidasa es regulada por el pH del lumen tilacoidal que depende del transporte de electrones y consecuentemente de los niveles de  $CO_2$ ,  $NADP^+$  Y  $ADP+P_i$ . La actividad de Zea-epoxidasa es controlada por la concentración de  $NADPH_2$  Y  $O_2$ .

Diferentes factores regulatorios (Siefermann, 1977; Yamamoto, 1979; Hager, 1980) permiten la formación de zeaxantina para cantidades excesivas de DFF absorbido. La desepoxidación de violaxantina a zeaxantina requiere un pH bajo en el lumen tilacoidal y reducción con ascorbato (que es re-reducido por NADPH); la disponibilidad de la violaxantina para la desepoxidación puede estar regulada, aunque ésta posibilidad no es completamente clara. La epoxidación de zeaxantina a violaxantina requiere  $O_2$  y NADPH. El ciclo de las xantofilas opera en ambos fotosistemas y es regulado por los mismos parámetros (Siefermann y Yamamoto, 1976).

Asociación entre el estado de desepoxidación del ciclo de las xantofilas, la energía térmica de disipación y la fotoprotección

Un parámetro que típicamente incrementa junto con los aumentos de exceso de luz absorbida por las clorofilas es la disipación térmica de energía. Esta actividad de disipación puede ser cuantificada por cambios en la fluorescencia de la clorofila. La relación lineal entre la cantidad de zeaxantina (o el estado de desepoxidación del ciclo) y la energía térmica de disipación puede ser observada en hojas bajo un amplio rango de condiciones. Sin embargo, hay situaciones en que la zeaxantina está presente y no hay disipación térmica de energía aunque esto es solo en ausencia de luz excesiva (Bilger et al., 1989; Demmig et al., 1988; Gilmore y Yamamoto, 1991).

El dato más fuerte que soporta una relación causal entre la zeaxantina y la energía térmica de disipación se ha obtenido usando un inhibidor de la desepoxidación de violaxantina a zeaxantina, DTT (Yamamoto y Kamite, 1972), en hojas intactas (Adams III et al., 1990; Bilger y Björkman, 1991; 1989; Demmig et al., 1990, Gilmore y Yamamoto, 1991; Winter y Koniger, 1989) y líquenes (Demmig-Adams et al., 1990).

Algunos autores han sugerido que la zeaxantina puede de alguna manera facilitar la desexcitación de la clorofila acumulada en forma sencilla. En contraste, Horton y col. (1991) han sugerido que la zeaxantina modifica el pH como respuesta de un proceso de disipación térmica de energía.

Numerosos resultados demuestran que las xantofilas tienen una función no solamente en la disipación térmica de energía, sino también en la protección de la membrana tilacoidal en contra de la demanda fotooxidativa (Müller et al., 2001), la zeaxantina puede directamente proteger la membrana tilacoidal en contra de la fotooxidación. Las membranas de los tilacoides son ricas en ácidos grasos poliinsaturados, que son particularmente susceptibles al  $O_2$ , el cual desencadena reacciones de peroxidación lipídica, la zeaxantina puede ser un importante antioxidante

en la membrana tilacoidal por sí misma, ya que podría capturar especies de oxígeno reactivas y/o detener la reacción en cadena de la peroxidación de lípidos (Sujak et al., 1999), la zeaxantina podría también tener una función estructural en la bicapa lipídica, ya que esta xantofila ha demostrado un decremento en la fluidez de la membrana (Tardy y Havaux, 1997) y este decremento podría ser importante para disminuir la penetración de las especies de oxígeno reactivas del lado del tilacoide (Müller et al., 2001).

### **Respuesta del ciclo de las xantofilas a factores ambientales de estrés**

Una variedad de factores ambientales de estrés pueden influenciar la operación del ciclo de las xantofilas. Esta influencia probablemente no es directa, pero actúa por medio de efectos sobre la capacidad fotosintética del transporte de electrones. Algunos factores ambientales de estrés que causan una disminución en la velocidad fotosintética, tendrán el efecto de incrementar la razón DFF/fotosíntesis aunque la DFF permanezca constante. Bajo tales circunstancias, la continua absorción de luz por la clorofila lleva a un incremento en el nivel por exceso de excitación de energía, y algún incremento en la cantidad de energía disipada puede proveer de una gran fotoprotección. Este tópico requiere considerable investigación, sin embargo, la evidencia indica que la zeaxantina es importante en la disipación de energía excesiva cuando las plantas están sujetas a factores ambientales de estrés en presencia de luz. En algunos casos, esta respuesta implica una lenta inversión del incremento de zeaxantina asociada a la disipación de energía tras el regreso a condiciones favorables. Aunque, el estrés no causa, necesariamente, efectos sobre la eficiencia fotoquímica (Ludlow et al., 1988).

#### **Estrés hídrico**

Tras el cese de riego las hojas de *Nerium oleander* (la cual no lleva a cabo ajuste osmótico) exhibieron prolongadas disminuciones en la producción de fluorescencia de clorofila, indicador de incremento en la disipación térmica de energía, así como el incremento en el nivel de zeaxantina, cuando tales hojas permanecieron en aumento de DFF por todo el período de desecación. El ciclo de las xantofilas se incrementó en magnitud a medida que el estrés hídrico se prolongó en el número de días. En este caso el fenómeno de fotoinhibición, esto es el prolongado descenso en la eficiencia de

conversión fotosintética de energía, fue aparentemente causada por una respuesta fotoprotectora (Björkman y Demmig, 1987; Demmig et al., 1988).

En algodón (el cual exhibe ajuste osmótico) el estrés hídrico también resulta en un incremento en la disipación térmica de energía (Björkman y Schafer, 1989). El porcentaje de luz absorbida que es disipada térmicamente incrementa desde 56% bajo condiciones de humedad (potencial hídrico=-1.1MPa). El descenso en la producción de fluorescencia de clorofila indica el incremento en la disipación térmica de energía de hasta 98% de la luz absorbida, esto también ha sido observado en varias especies bajo condiciones naturales de estrés hídrico en campo (Adams III, et al., 1989; Adams III, et al., 1987).

### Salinidad

El descenso prolongado en la eficiencia de conversión fotosintética de energía fue observado en hojas de mangle expuestas a plena luz solar. Este descenso en la eficiencia fotosintética puede ser explicado; totalmente, por el incremento en la disipación térmica de energía (Björkman y Demmig, 1987), probablemente asociado con zeaxantina. Valoraciones de disipación térmica de energía y contenido de zeaxantina pueden ser llevados a cabo en halófitas y no halófitas expuestas a condiciones de salinidad en el campo (Adams III y Demmig-Adams, 1992).

### Estrés nutricional

En plántulas de maíz, la limitación de nitrógeno resulta en una reducción en el crecimiento de retoños y la capacidad para la fotosíntesis; también, resulta en un aumento en el contenido de zeaxantina en las hojas (Khamis et al., 1990). Bajo DFF excesivo las plantas deficientes en nitrógeno incrementan su disipación térmica de energía (cuantificada desde la disminución de fluorescencia de la clorofila en campo). En otro estudio sobre el efecto de disponibilidad de N se encontró que el carotenoide dominante en plancton en superficies acuáticas ricas en nitratos fue fucoxantina, mientras el principal carotenoide en superficies pobres en nitratos fue zeaxantina. Así, cuando el nitrógeno abastecido es suficiente, la captura de luz parece ser acentuada (la fucoxantina es un carotenoide implicado en el transporte de electrones de energía capturada por la clorofila); cuando el nitrógeno es limitado (presumiblemente por la construcción del aparato fotosintético), la fotoprotección parece ser acentuada como un medio de disipación de energía absorbida (Adams III y Demmig-Adams, 1992).

La deficiencia de hierro en hojas de caña de azúcar causó una pérdida de clorofila y un pequeño descenso en la magnitud del ciclo de las xantofilas, resultando en un incremento en la magnitud del conjunto para cada clorofila (Morales et al., 1990). A pesar de este factor aquellas plantas fueron creciendo a solamente 20% de luz solar, el estado de desepoxidación del ciclo de la xantofila se incrementó fuertemente (casi para completar la desepoxidación) con incremento en la deficiencia de hierro. Este resultado es consistente con la relación entre el grado de exceso de luz y el estado de epoxidación del ciclo de las xantofilas (Adams III y Demmig-Adams, 1992).

### Temperatura

La proporción de desepoxidación de violaxantina a zeaxantina aumenta con el incremento de temperatura en la hoja (Bilger y Björkman, 1991), como se esperaría de una reacción enzimática. Una respuesta similar a la temperatura, ha sido obtenida por el desarrollo de disipación térmica de energía valorada por medidas del cambio en la fluorescencia de la clorofila en campo y en hojas intactas. Si las temperaturas elevadas no solo afectan la formación de zeaxantina sino también la activación de zeaxantina a través de la energización de la membrana, queda por investigarse (Bilger y Björkman, 1991; Adams III et al., 1990).

### Respuesta general a la alta radiación

Las reducciones prolongadas en la eficiencia de conversión de energía fotosintética, pueden ser observadas en plantas de hábitats expuestos al sol que están también sujetos a factores adicionales de estrés tales como: escasez de agua o baja disponibilidad de nutrientes, alta salinidad, o bajas temperaturas. En varios ejemplos, aquellas reducciones prolongadas estuvieron asociadas con incrementos prolongados en la disipación térmica de energía (del tipo asociado con zeaxantina) y prolongados aumentos en el contenido de zeaxantina. Así, hay casos en los cuales el fenómeno de fotoinhibición en el campo puede ser explicado por el aumento en la respuesta fotoprotectora. No se sabe qué prolonga una lenta inversión de zeaxantina asociada a energía de disipación sobre el regreso a condiciones más favorables disminuyendo la productividad de las plantas en el campo (Adams III y Demmig-Adams, 1992).

En este contexto, considerando que diferentes factores ambientales de estrés como la salinidad, la escases de agua, la baja disponibilidad de nutrientes, las altas temperaturas y la exposición prolongada a alta irradiación tienen influencia sobre el ciclo de las xantofilas, el valle de Zapotitlan de las Salinas representa un área que brinda las condiciones adecuadas para el estudio de dicho ciclo, ya que las características de aridez propias de la zona determinan la presencia de todos los tipos de estrés mencionados anteriormente; además el modelo de estudio adoptado permite evidenciar la operación del ciclo de las xantofilas específicamente en lo que se refiere al incremento en la irradiación, ya que la asociación que establecen *N. tetetzo* y *P. laevigata* determina que existan diferentes condiciones de irradiación bajo el follaje del arbusto, atenuando así la irradiación incidente en las cactáceas; por último las condiciones de deterioro ambiental que se presentan en la zona originan una disminución en la cobertura vegetal que se traduce en el aumento de irradiación para las plantas que se desarrollan en estos hábitats. Este trabajo pretende evidenciar que el fenómeno de nodrizaje actúa no solamente a nivel del ambiente físico creando microclimas más adecuados para el establecimiento de las plantas, sino también a nivel fisiológico modificando sus procesos metabólicos particularmente el desarrollo del ciclo de las xantofilas.

## Especies Botánicas

### *Prosopis*

El género *Prosopis* en México se conoce con el nombre común de mezquite, que provienen del náhuatl (micuitl). Este género pertenece a la subfamilia de las mimosaceae, de la familia de las leguminoseae (Granados, 1997).

Las hojas de todas las especies de *Prosopis* son pinada-compuestas, bipinadas: presentan de cuatro a treinta pares de pinas, usualmente lineares y glabras; su margen es entero y en algunas especies, existen estomas en ambos lados de la hoja. Las flores son perfectas, cortas, numerosas; dispuestas en capítulos o racimos espigados, sésiles; hermafroditas, actinomorfas, de tres a seis pétalos, generalmente producen un aroma y néctar agradables para la polinización por abejas, principalmente. El fruto es una vaina indehiscente, correosa, frecuentemente algo dura de varios centímetros de largo, concepto articulado en el endocarpio, mesocarpio pulposo y epicarpio coriáceo, varias o pocas semillas separadas una de otra por una red y fijadas en parénquima carnoso, a veces en pequeños tallos formando racimos y hasta doce vainas, generalmente de tres

a veinte centímetros de largo, planas y enroscadas en forma de espiral y contienen varias semillas alojadas en una pulpa dulce o bien seca y de color variable; semillas con endospermo escaso o sin él (Granados, 1997).

Florece de febrero a mayo, la floración está influenciada por el foto período y la precipitación pluvial. Los frutos maduran de junio a julio. La estructura del fruto y el alto contenido de azúcar y almidón que contienen el mesocarpio indica la adaptabilidad del fruto para la dispersión animal. En efecto, lo dulce y el alto contenido de almidones son atractivos para los animales, en particular para los mamíferos, en los que pasa a través del tracto digestivo resistiendo los jugos gástricos. Tiene una considerable red de raíces laterales y una vigorosa raíz pivotante que penetra con frecuencia de tres a quince metros llegando a veinte metros e incluso hasta más de cincuenta metros en busca de agua (Felker, 1979; citado por Granados, 1997).

El mezquite es una planta que básicamente se reproduce por semillas, su diseminación es zoófila y frecuentemente endozóica; este tipo de reproducción se ve muy afectada por las sequías prolongadas, ratas e insectos que atacan al fruto. La reproducción vegetativa se da cuando se afecta la parte aérea del mezquite, ya que a 20 cm (aproximadamente) de la superficie del suelo y sobre la raíz principal se encuentran las yemas latentes, estas yemas pueden dar origen a varias plántulas (5-8) en las cercanías del progenitor (Granados, 1997).

Aunque generalmente crece a lo largo de cursos de agua, las especies de *Prosopis* con frecuencia forman extensos matorrales densos. Pueden tolerar desiertos extremos y aún crecer rápidamente, si hay suficiente agua subterránea. Usualmente necesitan una lluvia anual de 250 mm, pero algunos especímenes se han encontrado bien establecidos en lugares con lluvias anuales tan bajas como 50mm. Se localiza generalmente en suelos pobres, prospera en suelos arenosos o rocosos, algunas especies son notablemente tolerantes a la sal (Granados, 1997).

Entre las adaptaciones que ha sufrido *Prosopis* para adquirir y retener la humedad están básicamente en el sistema radicular, la morfología de la hoja, y en las tolerancias fisiológicas de la planta; la capacidad que tiene el mezquite para absorber agua bajo fuerzas de tensión altas es una adaptación especial y muy eficiente en esta planta. Otra de las modificaciones del mezquite para poder retener el agua, es la reducción del tamaño de los estomas de las hojas (Granados, 1997).

*Neobuxbaumia*

En México se le conoce a este género como tetecho. Por lo general las plantas son columnares y escasamente ramificadas, variables en altura, pero algunas especies pueden alcanzar tallas de 14 m. Las flores son actinomorfas, hermafroditas, están cubiertas por brácteas, internamente llevan numerosos estambres y el estilo lleva numerosos lóbulos estigmáticos, son polinizadas por quirópteros y posiblemente por aves en algunas especies. Los frutos son ovoides, semicarnosos y cubiertos por brácteas y a veces espinas, las semillas son reniformes a ovoides, variables en tamaño, con testa negra sin micro ornamentación (Bravo-Holis y Sánchez-Mejorada, 1978).

Este género es endémico de México, se distribuye en las regiones semiáridas y cálido-secas del noreste, centro y sur del territorio, pero la mayor riqueza de especies se encuentra al sur del Eje Neovolcánico, incluyendo parte de la Depresión del Balsas, la Costa Pacífica Sur, el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y las Serranías Meridionales. Muestra preferencia por sustratos calizos, aunque puede encontrarse en otro tipo de sustratos. Se asocia con diferentes comunidades vegetales, principalmente los bosques tropicales caducifolios, los bosques espinosos y los matorrales xerófilos (Bravo-Holis y Sánchez-Mejorada, 1978).

## ÁREA DE ESTUDIO

La provincia florística del Valle de Tehuacán-Cuicatlán forma parte de la región Xerofítica Mexicana y se localiza en la parte Sureste del estado de Puebla y Noreste de estado de Oaxaca, entre los 17° 39' y 18° 53' de latitud Norte y los 96° 55' y 97° 44' de longitud Oeste (Rzedowski, 1978). Desde el punto de vista fisiográfico forma parte de la provincia denominada Mixteca-Oaxaqueña y abarca varios valles, entre los que destacan los de Cuicatlán, Huajuapán, Tehuacán, Tepelmeme y Zapotitlán (Figura 4), que forman parte de la Cuenca Alta del Río Papaloapan principalmente, y en menor proporción de la Cuenca Alta del Río Balsas. Sus límites orográficos principales son al Este y Noreste la Sierra Madre Oriental, aquí llamada Sierra de Zongolica y la Sierra de Juárez al Sur. Todos estos valles que conforman la provincia están limitados por una serie de serranías que en su conjunto determinan la Sierra Mixteca, la cual forma parte de la Sierra Madre Oriental (Villaseñor et al., 1990).

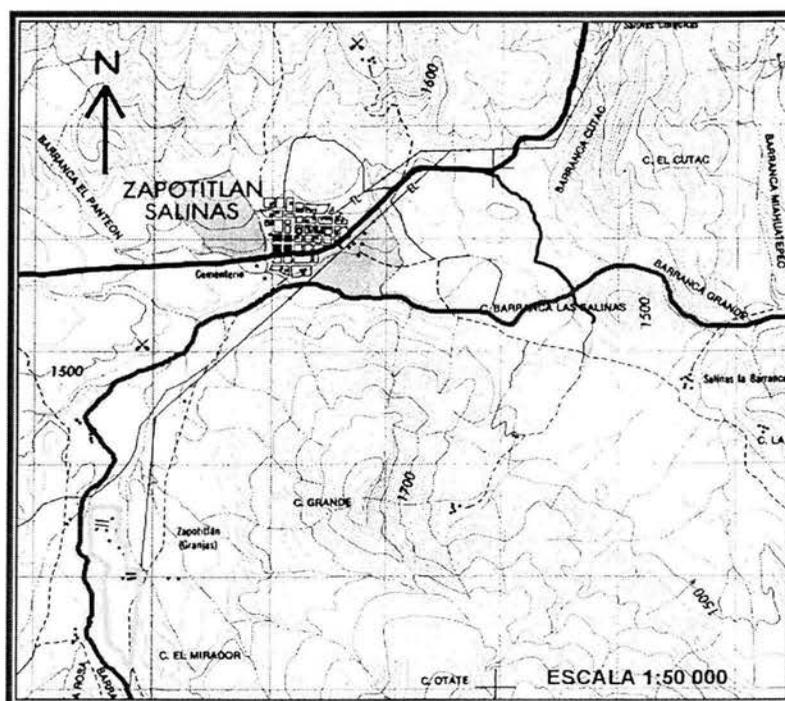


Figura 4. Mapa de Zapotitlán de las Salinas, Puebla.

Su clima corresponde al tipo semiárido, con condiciones de temperatura cálida y con poca a extrema oscilación de temperatura. Este clima se debe fundamentalmente al efecto de sombra de lluvia que producen las Sierras de Juárez y Zongolica (García, 1988).

Los tipos de vegetación, siguiendo la clasificación de Rzedowski (1978) son básicamente el Bosque Tropical Caducifolio, el Bosque Espinoso, Bosque de Encinos, Pastizal y el Matorral Xerófilo; éste último es el más ampliamente distribuido y presenta una gran variación (Villaseñor et al., 1990). Dentro de esta comunidad el tetecho y el mezquite, especies dominantes, originan tipos de vegetación característicos.

Tetechera: son agrupaciones de plantas crasas, altas de 3 a 11 m de altura, correspondientes a la cactácea columnar *N.tetecho*, especie que sobresale entre el matorral espinoso. Esta vegetación se restringe prácticamente a laderas de cerros con suelos derivados de lutitas y en laderas con lutitas en contacto con suelos calizos (Dávila et al., 1993).

Selva baja espinosa perennifolia: este tipo de vegetación se caracteriza por el predominio de *P.laevigata* constituyendo los llamados mezquiales desarrollándose en suelos aluviales profundos (Dávila et al., 1993).

En conjunto estas especies forman parte importante de la vegetación denominada tetechera-cardonal. Este tipo de vegetación se desarrolla en suelos derivados de lutitas en contacto con calizas, donde se encuentra una mezcla de cactáceas columnares pertenecientes a: *N. tetetzo* y *Cephalocereus columna-trajini*. Existe una gran variedad de especies presentes en el estrato arbóreo y arbustivo sobresaliendo: *Prosopis laevigata*, *Acacia coulteri*, *Mimosa luisana* y *Cercidium praecox* entre otras. (Dávila et al., 1993).

El espectro altitudinal de estas comunidades oscila entre los 545 y los 2458 metros, aunque la media altitudinal de esta provincia son los 1500 metros sobre el nivel del mar (Villaseñor et al., 1990).

## OBJETIVOS

### GENERAL

- Caracterizar los pigmentos fotosintéticos y accesorios presentes en *Neobuxbaumia tetetzo* y *Prosopis laevigata*

### PARTICULARES

- Estandarizar el método de extracción y cromatografía de pigmentos.
- Identificar los pigmentos fotosintéticos y accesorios presentes en ambas especies.
- Establecer la variación de pigmentos en individuos aislados y asociados.
- Establecer la variación de pigmentos en ciclos diurnos.
- Establecer la variación de pigmentos en luz y en sombra.
- Determinar el estado de epoxidación (EPS) del ciclo de las xantofilas en luz y sombra, aislamiento y asociación y a lo largo de un ciclo diurno.

## METODOLOGIA

Basados en un estudio cartográfico de deterioro ambiental, realizado por el laboratorio de edafología (UBIPRO. FES- Iztacala), se establecieron dos áreas de estudio: la primera, considerada perturbada, correspondió a los alrededores del jardín botánico Helia Bravo, se ubicó a los 18°19'38.4" de latitud y 97°27'16.6" de longitud; la segunda, considerada conservada, correspondió a las terrazas aluviales, ubicadas a los 18°18'20.1" de latitud y 97°29'29.6" de longitud.

### Trabajo de Campo

En el área perturbada se seleccionaron los organismos que cumplieran con las condiciones de asociación y aislamiento. Considerando organismos asociados a todos aquellos individuos de *N. tetetzo* y *P. laevigata* en los cuales las plantas de *N. tetetzo* hallan crecido bajo el dosel de *P. laevigata*; los organismos aislados son aquellos que se desarrollan en espacios abiertos, en donde la sombra producida por el dosel del arbusto, no cubría ninguna parte de la cactácea. En el área conservada se seleccionaron únicamente individuos de *P. laevigata* debido a que en las terrazas aluviales no se desarrollan plantas de *N. tetetzo*. Se eligieron individuos que tuvieran el mismo tamaño, en el caso de *N. tetetzo* fue de 2.30 m; para *P. laevigata* en el área perturbada fue de 1.70 m y en el área conservada fue de 2.50 m.

También se consideraron dos condiciones ambientales: luz y sombra. Dependiendo de la posición del sol las plantas muestran dos zonas, Este y Oeste; la zona Este es iluminada directamente por los rayos del sol desde las primeras horas del amanecer y hasta el medio día, durante estas mismas horas, en la zona Oeste se genera una sombra producida por la misma planta; después del medio día la situación se invierte, la zona Este se sombrea y la zona Oeste recibe los rayos del sol directamente. De tal forma que se consideró condición de luz a la superficie de la planta en donde los rayos del sol incidían directamente a lo largo del día; y condición de sombra a la parte de la planta que era sombreada por si misma a lo largo del día.

Posteriormente se realizaron muestreos de individuos de tetecho y mezquite crecidos en aislamiento y asociación. Las colectas se llevaron a cabo en la estación fría del 2001. El muestreo abarcó un ciclo de 24 horas, iniciando a las 12 del día y repitiéndose cada 3 hrs hasta completar el ciclo diurno. Para cada condición estudiada se colectaron dos replicas en individuos diferentes. La toma de muestras se realizó en el caso del tetecho, con un horador metálico el cual se introdujo a la planta hasta una

profundidad suficiente para tomar 1cm cúbico de muestra, el tejido se depositó en un tubo eppendorf y fue sumergido en un tanque con nitrógeno líquido. En el caso del mezquite se colectaron los foliolos introduciéndolos en tubos eppendorf y fueron conservados en nitrógeno líquido para transportarlos al laboratorio.

Los parámetros ambientales de temperatura, humedad relativa y densidad de flujo fotónico fueron tomados con un Sistema Portátil de Fotosíntesis LI-COR LI 6400 (IRGA).

### Trabajo de laboratorio

Las muestras trasladadas del campo al laboratorio se almacenaron en un ultracongelador REVCO a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de extraer los pigmentos.

*Extracción:* Se maceraron 0.5 gr de tejido en 3 ml de acetona; los extractos se centrifugaron, en una micro-fuga Eppendorf modelo 5415-C, a 14000 r.p.m., ( $16000 \times g$ ) durante 10 min. Finalmente los extractos se filtraron a través de una membrana de nylon de  $0.2\mu\text{m}$ , con ayuda de vacío.

*Cromatografía:* La técnica utilizada fue cromatografía de líquidos de alta resolución, HPLC, para lo cual se utilizó un cromatógrafo de líquidos HEWLETT PACKARD modelo 1100 equipado con una bomba cuaternaria y detector UV-Vis con arreglo de diodos. La fase estacionaria fue una columna Allsphere ODS-1; para la fase móvil se emplearon dos mezclas de solventes:

A) acetonitrilo-metanol-Tris HCL buffer 0.1 M pH 8.0 (75:12:4)

B) metanol-hexano (4:1).

El solvente A se corrió durante 5 min. seguido de un gradiente lineal de 2.5 min. a 100% del solvente B. La velocidad del flujo durante toda la separación fue de  $2 \text{ ml min}^{-1}$  inyectándose  $20 \mu\text{l}$  de muestra. La detección de los pigmentos se realizó mediante un detector de arreglo de diodos con rango de 360 a 800 nm y un registro fijo a 440 nm

*Identificación:* La identificación de pigmentos se realizó por el tiempo de retención de cada pigmento en el cromatograma, y por las absorciones máximas de los espectros con tablas de absorción de diferentes autores: Mercadante, Rodríguez y Britton, 1997; Mosquera y Méndez, 1993; Mosquera, Rojas, y Guerrero. 1992; Razungles, Babic, Sapis y Bayonove, 1996; Goodwin. 1988 y 1976).

*Cuantificación:* La cuantificación de cada pigmento se realizó integrando el área del pico correspondiente a ese pigmento en el cromatograma, la longitud de onda utilizada fue 440 nm. Los coeficientes de extinción empleados para la cuantificación fueron: luteína y violaxantina (2550), zeaxantina (2540),  $\beta$ -caroteno (2590); las clorofilas a y b fueron cuantificadas de acuerdo a Vernon (1960). El factor de conversión empleado fue: violaxantina (20.72), luteína (27.10), zeaxantina (26.90), clorofila a (34.94), clorofila b (38.53),  $\beta$ -caroteno (18.94). La anteraxantina fue estimada usando el factor de luteína y la neoxantina fue estimada usando el factor de violaxantina.

## RESULTADOS

### Parámetros ambientales.

Las mediciones realizadas en campo a lo largo de un ciclo diurno en cuanto a temperatura del aire ( $T^{\circ}\text{C}$ ), humedad relativa (HR) y densidad de flujo fotónico (DFF) se muestran en la figura 5, donde se observa que la temperatura más baja correspondió a  $15.6^{\circ}\text{C}$  registrándose a las 6 hrs y la más alta de  $37.8^{\circ}\text{C}$  registrándose a las 12 hrs., existiendo así una fluctuación de  $22.2^{\circ}\text{C}$  a lo largo del día. La humedad relativa en el ambiente presentó sus niveles máximos a las 6 hrs  $47.7\%$  y los más bajos a las 12 hrs  $18.2\%$ . La densidad de flujo fotónico se mantuvo en cero de las 21 a las 6 hrs, posteriormente aumento conforme avanzaba la hora del día hasta alcanzar su valor más elevado a las 12 hrs de  $1944\ \mu\text{Mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ .

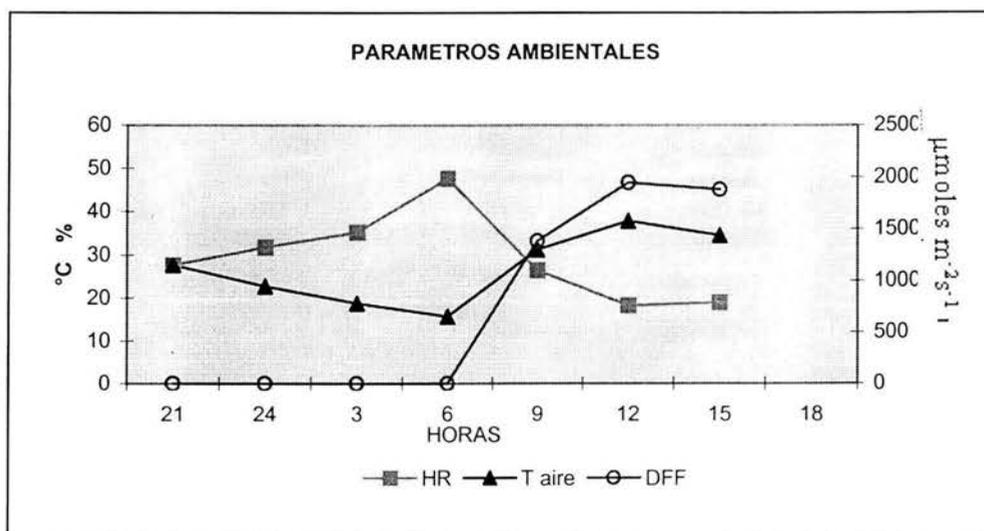


Figura 5. Mediciones realizadas el día 15 de febrero 2001 a lo largo de un ciclo diurno en la región de Zapotitlan de las Salinas Pue. La temperatura del aire se expresa en  $^{\circ}\text{C}$ , la humedad (HR) en % de humedad relativa y la irradiación (DFF) en  $\mu\text{Mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ .

### Composición de pigmentos en luz y sombra para *Neobuxbaumia tetetzo* en aislamiento.

El contenido de clorofila a+b en condición de luz en el ciclo de 24 hrs fue de 99.9327  $\mu\text{Mol m}^{-2}$ , del lado sombreado de la planta el contenido de clorofila a+b fue de 113  $\mu\text{Mol m}^{-2}$  (Tabla 1). Las proporciones de clorofila a/b presentes en *N. tetetzo* aislado en condición de luz y sombra a lo largo del día, registran valores entre 3.2 y 2.4, obteniéndose como promedio una proporción de 2.8 en ambas condiciones (Tabla 1). Este valor puede considerarse bajo, ya que sólo a las 18 y 21 hrs se mantuvo la proporción 3/1 reportada por Goodwin (1988) para plantas superiores.

<i>N.tetetzo</i>	Cl a+b ( $\mu\text{mol m}^{-2}$ )		Cl a/b
Aislado			
Luz	99.9327	$\pm 0.80$	2.8055 $\pm 0.12$
Sombra	113	$\pm 1.21$	2.8134 $\pm 0.15$
Asociado			
Luz	181.2164	$\pm 38.5$	3.1487 $\pm 0.08$
Sombra	192.3559	$\pm 27.7$	3.0839 $\pm 0.09$

Tabla1. Comparación del contenido y proporción de clorofila a+b entre *N. tetetzo* aislado y asociado en condición de luz y sombra.

Respecto al tipo de carotenoides se encontraron  $\beta$ -caroteno y 5 xantofilas (luteína, neoxantina, anteraxantina, violaxantina y zeaxantina). Luteína fue el segundo pigmento más abundante después de clorofila a, representó el 57% del total de carotenoides en luz y el 56% en sombra;  $\beta$ -caroteno tuvo un porcentaje de 14% en condición de luz y 16% en sombra; neoxantina tampoco mostró mucha variación 8% en luz y 10% en sombra, sin embargo, ambos pigmentos se encontraron más concentrados en la parte sombreada de la planta. En conjunto, el pool (V+A+Z) del ciclo de las xantofilas representó el 22% del total de carotenoides en condición de luz y 18% en la sombra (Figura 6).

En el lado iluminado de la planta neoxantina y  $\beta$ -caroteno mantuvieron un comportamiento que no mostró ninguna tendencia en función a la hora del día, en cambio luteína tuvo un comportamiento similar a violaxantina disminuyendo cuando aumento la DFF (Figura 7a). El pool del ciclo de las xantofilas registró el valor más bajo a las 3 hrs (105  $\text{mMol mol}^{-1}$  Cl a+b), a partir de las 6 hrs se observó una tendencia de incremento que se continuó hasta alcanzar el valor máximo (218.6  $\text{mMol mol}^{-1}$  Cl a+b) a las 18 hrs (Figura 7a).

En la figura 7c se observó el comportamiento diurno para los pigmentos del ciclo de las xantofilas en condición de luz. Violaxantina se encontró en mayor concentración de las 21 a las 6 hrs, hora en la que alcanzó su concentración máxima con  $64.69 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ , para descender con el aumento en la irradiación hacia las 9 hrs a  $29.3 \text{ } \mu\text{Mol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$  y seguir descendiendo paulatinamente hasta alcanzar su valor más bajo ( $23.09 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ) a las 18 hrs.

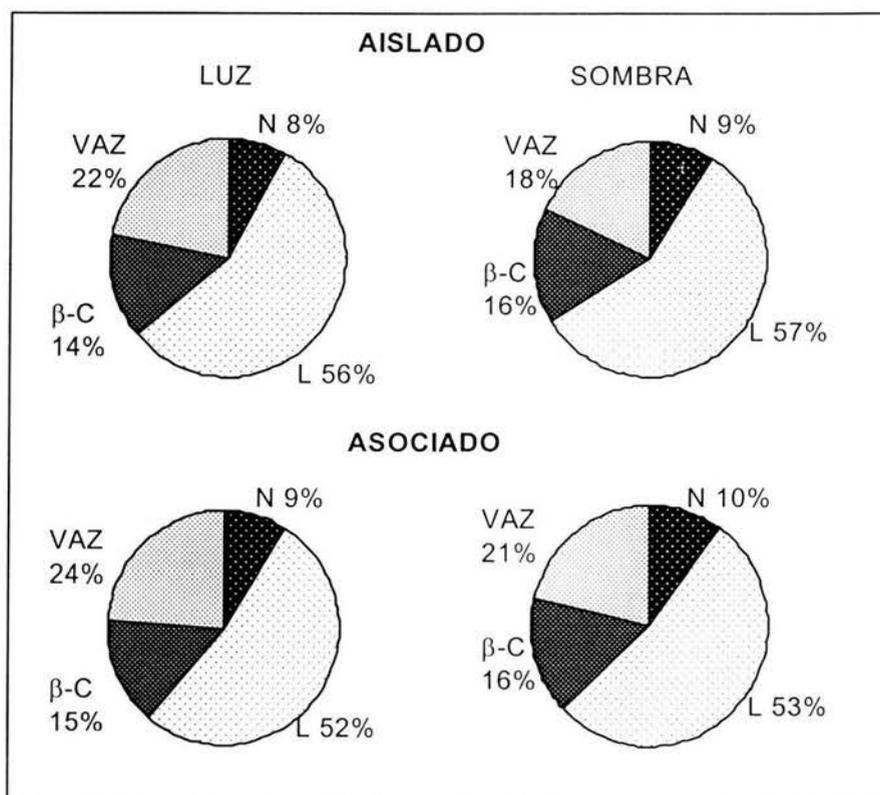


Figura 6. Porcentaje de la composición de carotenoides para *Neobuxbaumia tetetzo* en condición de luz y sombra en plantas aisladas y asociadas. N:neoxantina, L:luteina, B-C:β-Caroteno, VAZ: violaxantina +anteraxantina + zeaxantina.

Anteraxantina no mostró una tendencia clara a lo largo del día; en cambio zeaxantina mantuvo bajas concentraciones entre las 21 y las 6 hrs cuando alcanzó su valor más bajo de  $19.08 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ , para aumentar  $87.8 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$  a las 9 hrs, y registrar un valor de  $106.8 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ , esta tendencia se mantuvo hasta alcanzar su valor máximo ( $157.6 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ) a las 15 hrs y volvió a disminuir al atardecer.

En la figura 7e se muestra la relación entre el contenido de zeaxantina, el pool del ciclo de las xantofilas y la DFF, observándose claramente cómo a partir de las 6 hrs

zeaxantina y el ciclo de las xantofilas fueron promovidos cuando los niveles de irradiación aumentaron conforme avanza la hora del día. El inciso g de la misma figura muestra dos índices del estado de epoxidación (EEP) del ciclo de las xantofilas que ocurrieron al mismo tiempo que los cambios en la incidencia de DFF. El primero muestra la proporción de A+Z/VAZ observándose cómo en las horas de oscuridad se mantuvieron bajos índices de EEP, los cuales aumentaron en las horas de luz cuando la violaxantina comenzó la desepoxidación para convertirse en anteraxantina y posteriormente en zeaxantina; el segundo índice muestra la proporción de A+V/VAZ, aquí se presentó el comportamiento contrario, con altos índices de EEP en la oscuridad producidos por que el ciclo se encontraba en forma di-epoxidica, con el aumento en la irradiación comenzó la desepoxidación del ciclo de manera que disminuyó el EEP.

En la parte sombreada de la planta, el comportamiento de luteína mostró el mismo comportamiento que en la parte iluminada, neoxantina y  $\beta$ -caroteno no mostraron variaciones; sin embargo, el pool del ciclo de las xantofilas experimentó un cambio drástico. En las horas de oscuridad tuvo los mismos valores que la parte iluminada, entre las 6 y las 9 horas ocurrió un incremento, producto del aumento en la irradiación, para después disminuir a sus niveles más bajos ( $80.93 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ) y mantenerse estable hasta las horas de la noche (Figura 7b).

También el comportamiento de los pigmentos del ciclo de las xantofilas individualmente mostró notables diferencias, ya que violaxantina a pesar de disminuir en las horas de luz no presentó un descenso tan marcado como en el lado iluminado e inclusive, se observó que entre las 12 y las 15 hrs mantuvo un valor constante para aumentar y alcanzar a las 18 hrs valores semejantes a los registrados por la noche (Figura 7d). Anteraxantina y zeaxantina mostraron el mismo comportamiento observándose el aumento de ambos pigmentos entre las 6 y las 9 hrs y su disminución a las 12 del día (Figura 7d).

El efecto de sombra en el comportamiento de los pigmentos del ciclo de las xantofilas es más evidente en la figura 7f, en donde se puede observar como zeaxantina y el pool entero del ciclo mostraron un comportamiento idéntico, el cual, no obedeció al comportamiento de la irradiación, puesto que la sombra producida por la planta redujo la DFF. En cuanto al EPS en sombra se observó que la conversión de violaxantina a zeaxantina y la reconversión subsiguiente se presentó en menor grado ya que entre las 9 y las 15 hrs ambos índices presentaron valores muy semejantes (Figura 7h).



### Composición de pigmentos en luz y sombra para *Neobuxbaumia tetetzo* en asociación.

El contenido de clorofilas a+b en *N. tetetzo* asociado a lo largo del día fue de 181.21  $\mu\text{Mol m}^{-2}$  en luz y 192.35  $\mu\text{Mol m}^{-2}$  en sombra (Tabla 1); la proporción de estos pigmentos fue de 3.14 y 3.08 para luz y sombra respectivamente.

Se encontraron los mismos carotenoides que en *N. tetetzo* aislado pero sus proporciones variaron, luteína se redujo y presentó un valor en luz de 52 % y sombra de 53%; en condición de luz  $\beta$ -caroteno presentó 15 % y neoxantina presentó 9 %, sin embargo en sombra incrementaron ligeramente (1 % cada uno). Por su parte el pool del ciclo también experimentó un ligero aumento, en condición de luz representó el 24% y en sombra el 21% (Figura 6).

Para *N. tetetzo* asociado luteína, neoxantina y  $\beta$ -caroteno se comportaron de la misma forma en condición de luz y en condición de sombra, inclusive con valores muy cercanos, observándose nuevamente la tendencia de luteína a descender en las horas de mayor irradiación (Figura 8 a-b). El pool del ciclo sí mostró diferencias en luz y en sombra durante las horas de irradiación, en condición de sombra a partir de las 6 hrs se observó un decremento que se prolongó hasta las 15 hrs, cuando llegó a su valor más bajo (82.19  $\text{mMol mol}^{-1}$  Cl a+b), después de este decremento el pool del ciclo aumentó considerablemente a las 18 hrs mostrando una tendencia marcadamente influenciada por el comportamiento de violaxantina (Figura 8b). En condición de luz el pool del ciclo mostró un comportamiento irregular en las horas de mayor irradiación. Entre las seis y las nueve horas se observó un incremento producido por el aumento en la DFF sin embargo, esta tendencia no se mantuvo a pesar de que la irradiación continuó en aumento hasta las 12 hrs, en cambio cuando la DFF comenzó a descender alrededor de las 15 hrs, los pigmentos del pool del ciclo experimentaron un nuevo aumento (Figura 8a).

En condición de sombra los pigmentos del ciclo, a pesar de responder al comportamiento esperado, no mostraron diferencias significativas entre ellos; algo que es importante señalar es que el valor de zeaxantina a las 18 hrs se disparó hasta 106.23  $\text{mMol mol}^{-1}$  Cl a+b, saliendo totalmente del comportamiento que mostró este pigmento a lo largo del día (Figura 8d). Para la parte iluminada de la planta la concentración de violaxantina alcanzó su valor más alto entre las 3 y las 6 hrs (47  $\text{mMol mol}^{-1}$  Cl a+b), en el transcurso del día su valor decreció hasta 19  $\text{mMol mol}^{-1}$  Cl a+b a las 15 hrs y se elevó al atardecer.

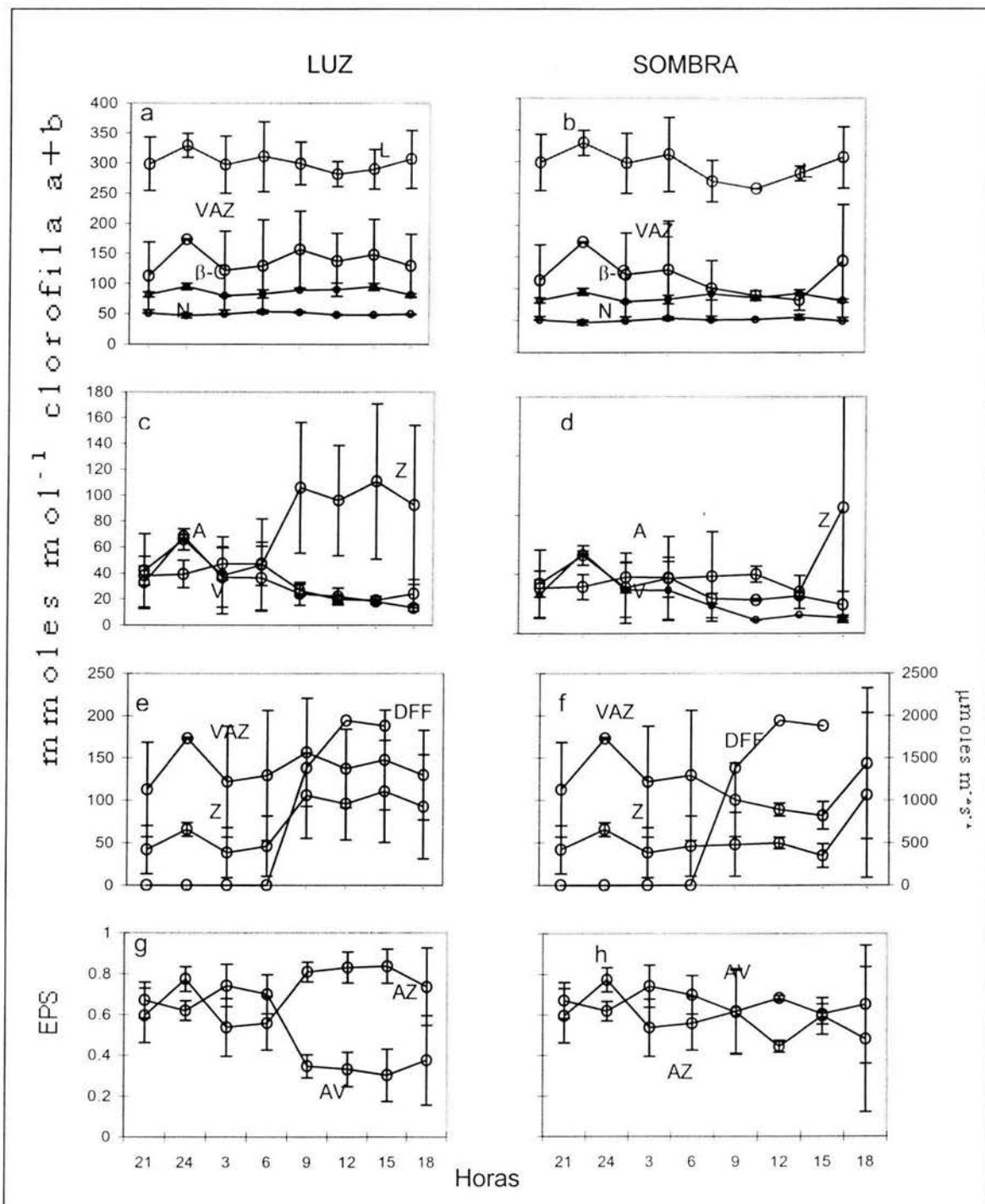


Figura 8. Composición de carotenoides (a-b), comportamiento del ciclo de las xantofilas (c-d), relación entre el contenido de zeaxantina el pool del ciclo de las xantofilas y la densidad de flujo protónico (e-f) y estados de epoxidación del ciclo de las xantofilas del lado iluminado y sombreado de la planta a través de un ciclo de 24 horas (g-h) presentes en *N.tetetzo* asociada. Contenido de carotenoides en mMol mol<sup>-1</sup> de Cl a+b. Densidad de flujo fotónico en  $\mu\text{Mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; L:luteina; N:neoxantina;  $\beta$ -C: $\beta$ -caroteno; A:antheraxantina; V:violaxantina; Z:zeaxantina; VAZ:pool del ciclo de las xantofilas; DFF:densidad de flujo fotónico; EPS:estado de epoxidación; A+Z =A+Z/VAZ; A+V= A+V/VAZ.

Zeaxantina presentó su valor más bajo ( $38.29 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ) a las 3 hrs, posteriormente se presentaron dos registros de concentración máxima a las 9 y a las 15 hrs siendo este último el más alto con  $110.71 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ . Anteraxantina mostró a partir de las 6 hrs una tendencia a disminuir y presentó su valor más bajo a las 18 hrs ( $13.14 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ). Cabe destacar que a la media noche se observó una fuerte promoción de anteraxantina que alcanzó una concentración de  $68.27 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ , siendo este su valor más alto, el aumento también se observó en zeaxantina aunque no tan marcadamente (Figura 8c).

El pool del ciclo y el contenido de zeaxantina en la parte iluminada mostraron una relación directamente proporcional durante todo el día; observándose claramente que la promoción de zeaxantina a las 24 hrs y las máximas concentraciones registradas para zeaxantina a las 9 y a las 15 hrs, también se expresaron en el pool del ciclo (Figura 8e). Bajo esta misma condición el estado de desepoxidación se encuentra bien marcado en las horas de alta irradiación promoviéndose la desepoxidación del ciclo en el índice que marca cuánto del ciclo se encuentra libre de epóxidos; y la consecuente epoxidación en el índice que es producido por la conversión de zeaxantina en violoaxantina. Sin embargo, en las horas de la noche no se encontró una diferencia clara producto del aumento en la concentración que experimentaron zeaxantina y anteraxantina a las 24 hrs (Figura 8g).

La figura 8f muestra que el pool del ciclo y el contenido de zeaxantina en la parte sombreada de la planta mantuvieron una relación inversa a la irradiación, disminuyendo justamente en las horas en que ésta era más intensa. Los resultados establecieron una relación estrecha con el estado de epoxidación del ciclo ya que ninguno de los dos índices mostró una diferenciación clara, solamente a las 12 hrs se pudo considerar que existió una diferencia significativa entre ambos índices (Figura 8h).

### Composición de pigmentos en luz y sombra para *Prosopis laevigata* en aislamiento

La concentración de clorofila a+b resultó ser más elevada en la parte sombreada de la planta ( $2481.39 \mu\text{Mol m}^{-2}$ ) en comparación con la parte iluminada ( $2223.21 \mu\text{Mol m}^{-2}$ ); la proporción de clorofila a/b en ambas condiciones fue de 2.8 (Tabla 2). A lo largo del día clorofila a y b se comportan de la misma manera, mostrando sus concentraciones máximas a las 15 hrs con  $272.9 \mu\text{Mol m}^{-2}$  para clorofila a y  $88.9 \mu\text{Mol m}^{-2}$  para clorofila b. En la parte iluminada de la planta la concentración máxima de ambos pigmentos también se obtuvo a las 15 hrs, clorofila a registro  $475.2 \mu\text{Mol m}^{-2}$  y clorofila b  $158.7 \mu\text{Mol m}^{-2}$ .

<i>P. laevigata</i>	Cl a+b ( $\mu\text{Mol m}^{-2}$ )	Cl a/b
Aislado		
Luz	$2223.21 \pm 0.407$	$2.89 \pm 0.034$
Sombra	$2481.39 \pm 0.378$	$2.83 \pm 0.048$
Asociado		
Luz	$2473.02 \pm 0.317$	$2.78 \pm 0.299$
Sombra	$2696.26 \pm 0.145$	$2.70 \pm 0.347$
Terrazas		
Luz	$1920.98 \pm 0.007$	$2.28 \pm 0.317$
Sombra	$2127.93 \pm 0.114$	$2.46 \pm 0.092$

Tabla 2. Comparación del contenido y proporción de Clorofila a+b presente en *Prosopis laevigata* desarrollada en aislamiento, asociación y terrazas durante un ciclo de 24 horas en condición de luz y sombra.

El porcentaje de carotenoides en luz y en sombra resultó ser el mismo para neoxantina (11%) y  $\beta$ -caroteno (12%); luteína representó el 45% del total de carotenoides en luz y 47% en sombra; por último, los pigmentos del pool del ciclo (violaxantina + anteraxantina + zeaxantina) representaron el 32% en luz y 30% en sombra (Figura 9).

El comportamiento de los pigmentos a lo largo del día en condición de luz y sombra, en general, no mostró una tendencia claramente diferenciada para cada uno de ellos, sin embargo en ambas condiciones la concentración máxima de todos los pigmentos se registró a las 18 hrs (Figura 10 a-b).

En condición de luz los pigmentos del ciclo de las xantofilas mostraron el comportamiento esperado, violaxantina mantuvo altas concentraciones en las horas de

oscuridad y presentó su valor más elevado a las 21 hrs ( $188 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ), a partir de las 6 horas la concentración de violaxantina comenzó a decrecer y presentó su valor más bajo a las 12 hrs ( $89 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ), posteriormente su concentración volvió a aumentar entre las 15 y las 18 hrs (Figura 10 c-d).

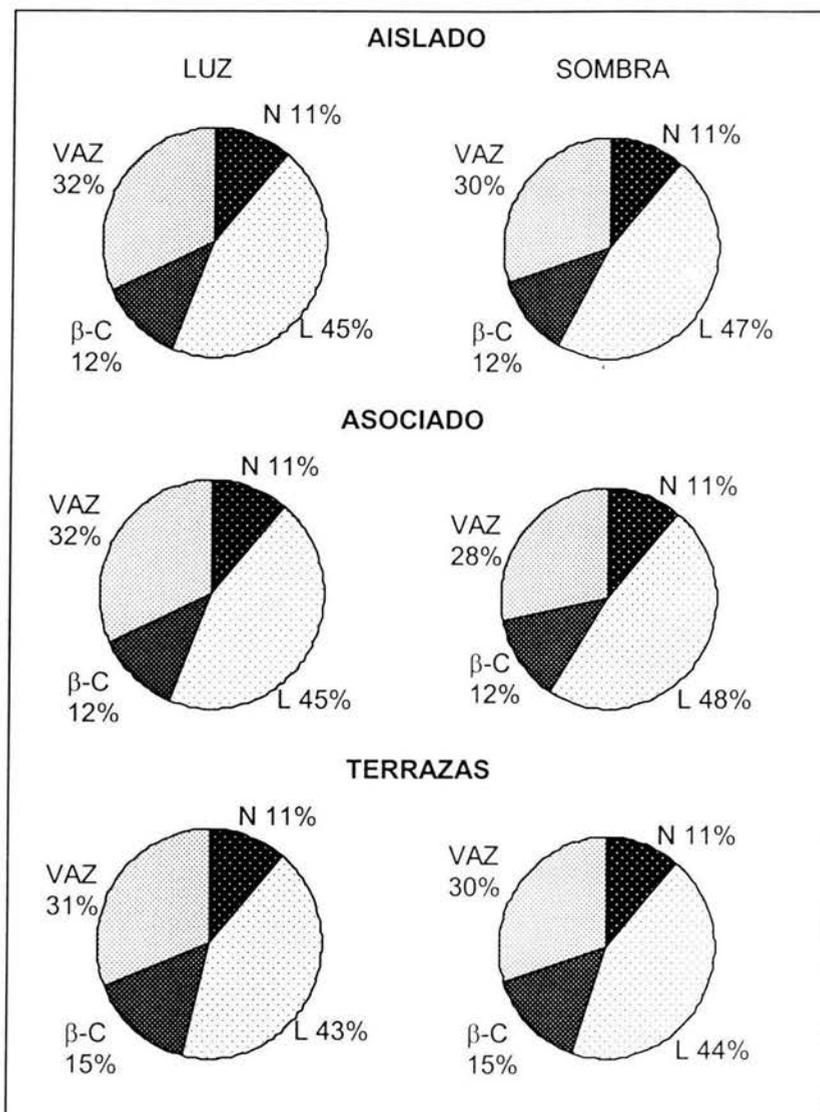


Figura 9. Porcentaje de la composición de carotenoides para *Prosopis laevigata* en condición de luz y sombra en plantas aisladas, asociadas y desarrolladas en las terrazas aluviales. N:neoxantina, L:luteína, β-C:β-Caroteno, VAZ: violaxantina + anteraxantina + zeaxantina.

Anteraxantina presentó su valor más elevado a las 18 hrs ( $103 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ) y el más bajo a las 15 hrs ( $34 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ). Por su parte zeaxantina mantuvo bajas concentraciones en las horas de oscuridad presentando su valor más bajo a las 21 hrs ( $19 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ), a partir de las 6 hrs ocurrió un fuerte aumento

en su concentración hasta alcanzar el valor más alto a las 12 hrs ( $102 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ), después de esta hora su concentración disminuyó nuevamente (Figura 10c).

En condición de sombra anteraxantina presentó el valor más alto a las 18 hrs ( $111 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ) y la más baja a las 9hrs ( $42 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ). Violaxantina mostró el mismo comportamiento que en la parte iluminada de la planta, presentando sus valores máximo y mínimo a las 21 y 12 hrs respectivamente; es importante señalar que en las horas de alta irradiación la concentración de violaxantina fue ligeramente superior en la parte sombreada de la planta. Zeaxantina durante las horas de oscuridad mostró el mismo comportamiento en ambas condiciones sin embargo, el comportamiento durante el día fue diferente; entre las 6 y 9 hrs ocurrió un ligero aumento ( $9 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ), a diferencia de los  $57 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$  que aumentó en la parte iluminada durante este mismo periodo, fue hasta las 12 hrs cuando se observó un fuerte incremento en la concentración de zeaxantina ( $67 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ), a las 15 hrs volvió a bajar y posteriormente se observó un nuevo incremento hacia las 18 hrs (Figura 10d).

El pool del ciclo de las xantofilas y su relación con la DFF está graficado en la Figura 10(e-f), donde se observa que en ambas condiciones el comportamiento de los pigmentos del ciclo mostró una tendencia independiente a la que siguió la densidad de flujo fotónico; en cambio, la fuerte influencia de la irradiación en el comportamiento de violaxantina y zeaxantina determinó una relación inversamente proporcional para violaxantina, y directamente proporcional para zeaxantina.

Finalmente los índices de EPS en ambas condiciones demostraron que la forma predominante del ciclo de las xantofilas en *P. laevigata* aislado fue el di-epóxido violaxantina, ya que las formas más oxidadas del ciclo fueron las predominantes a lo largo del día, únicamente a las 12 hrs existió una conversión tal que permitió a la zeaxantina situarse ligeramente arriba de violaxantina en condición de luz; en la sombra a pesar de que sí existió una fuerte conversión del di-epóxido no fue suficiente para rebasar la concentración de este y por lo tanto, zeaxantina se mantuvo ligeramente debajo de violaxantina (Figura 10 g-h).

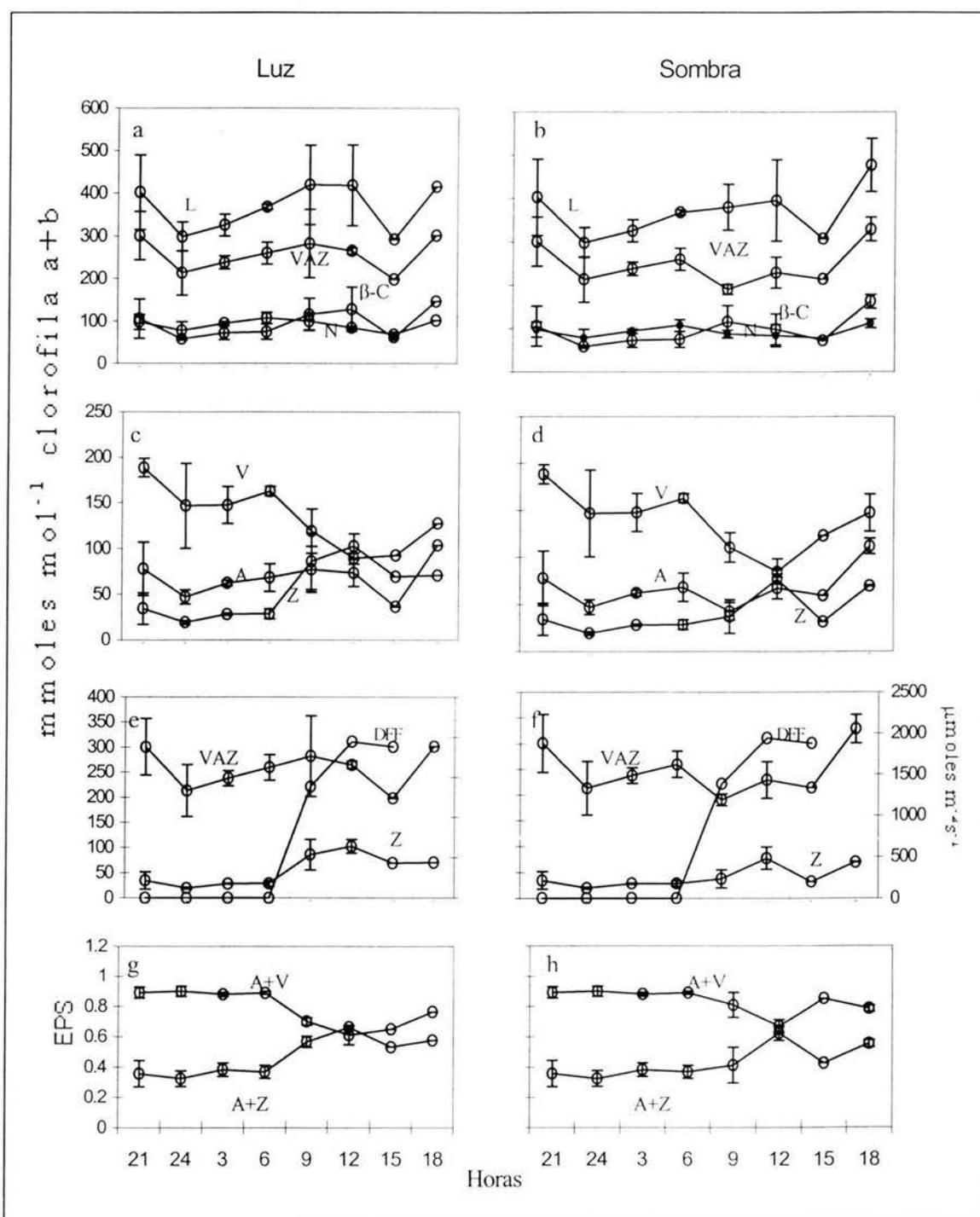


Figura 10. Composición de carotenoides (a-b), comportamiento del ciclo de las xantofilas (c-d), relación entre el contenido de zeaxantina el pool del ciclo de las xantofilas y la densidad de flujo fotónico (e-f) y estados de epoxidación del ciclo de las xantofilas del lado iluminado y sombreado de la planta a través de un ciclo de 24 horas (g-h) presentes en *P. laevigata* aislada. Contenido de carotenoides en mMol mol<sup>-1</sup> Cl a+b. Densidad de flujo fotónico en  $\mu\text{Mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  L:luteína, N:neoxantina,  $\beta$ -C: $\beta$ -caroteno, A:anteraxantina, V:violaxantina, Z:zeaxantina, VAZ: pool del ciclo de las xantofilas, DFF: densidad de flujo fotónico, EPS: estado de epoxidación, A+Z= A+Z/VAZ, A+V= A+V/VAZ.

## Composición de pigmentos en luz y sombra para *Prosopis laevigata* en asociación.

La concentración de clorofila a+b presente en *P. laevigata* asociada fue mayor en condición de sombra ( $2696 \mu\text{Mol m}^{-2}$ ) que en luz ( $2473 \mu\text{Mol m}^{-2}$ ). La proporción de clorofila a/b en ambas condiciones fue de 2.7; a lo largo del día esta proporción osciló entre 2.3 a las 6hrs y 3.2 a las 18hrs (Tabla 2).

El porcentaje de cada uno de los carotenoides en condición de luz fue el siguiente: luteína representó el 45%, el pool del ciclo de las xantofilas 32%,  $\beta$ -caroteno 12% y finalmente neoxantina 11%; en condición de sombra luteína aumentó a 48%, el pool del ciclo disminuyó a 28%,  $\beta$ -caroteno aumentó ligeramente a 13% y neoxantina presentó el mismo valor (Figura 9).

A lo largo del día luteína, neoxantina,  $\beta$ -caroteno y el pool del ciclo de las xantofilas mostraron una tendencia bien definida, por lo tanto la concentración máxima para todos estos pigmentos se obtuvo a las 21 hrs en ambas condiciones, a las 3 hrs experimentaron un ligero aumento, posteriormente su concentración no presentó grandes fluctuaciones manteniéndose constantes (Figura 11 a-b). Los pigmentos del ciclo de las xantofilas presentaron el mismo comportamiento en ambas condiciones. La concentración máxima de los tres carotenoides se presentó las 21 hrs. Durante la noche el comportamiento de violaxantina resultó ser incongruente con lo esperado debido a que no mantuvo un nivel constante en las horas de oscuridad ya que aumentaba y disminuía de una hora a otra; a partir de las 6 hrs la concentración de violaxantina decreció paulatinamente, hasta alcanzar su valor más bajo de  $70 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$  a las 12 hrs en condición de luz, y  $76 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$  a las 15 hrs en condición de sombra; a las 18 hrs en la parte iluminada de la planta se observó que con la disminución de la intensidad luminosa la concentración de violaxantina volvió a incrementar.

Anteraxantina solamente presentó una ligera variación a las 15hrs de  $4 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$  exceptuando este dato sus valores en el resto del día fueron los mismos, manteniendo bajas concentraciones durante la noche y solamente experimentó un ligero aumento a las 15hrs. Zeaxantina tampoco cambió su comportamiento en luz o en sombra, en ambos casos la concentración máxima fue a las 21 hrs; mantuvo una baja concentración entre las 24 y las 6 hrs y comenzó a aumentar a partir de las 9 hrs hasta alcanzar su valor más elevado a las 15hrs  $108$  y  $105 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$  en luz y sombra respectivamente. Es importante señalar que a pesar de que se presentó el mismo comportamiento en ambas condiciones, el aumento en la concentración de zeaxantina

fue más notable en las primeras horas del día en el lado iluminado de la planta (Figura 11 c-d).

El pool del ciclo de las xantofilas en luz respondió al fuerte incremento en la concentración de zeaxantina a las 15 hrs; en sombra el comportamiento se asemejó mucho al de violaxantina Figura 11 (e-f).

Por otro lado los índices del EPS revelaron el mismo fenómeno que presentó esta especie en condición de aislamiento. La forma di-epoxídica del ciclo fue la predominante a lo largo del día, aunque sí se observó la conversión promovida por el aumento en la irradiación en ambas condiciones, únicamente a las 15hrs la zeaxantina se encontró por arriba de violaxantina, sin embargo, se observó la rápida reconversión hacia las formas epoxídicas del ciclo hacia las 18 hrs, producto de la disminución en la irradiación Figura 11 (g-h).

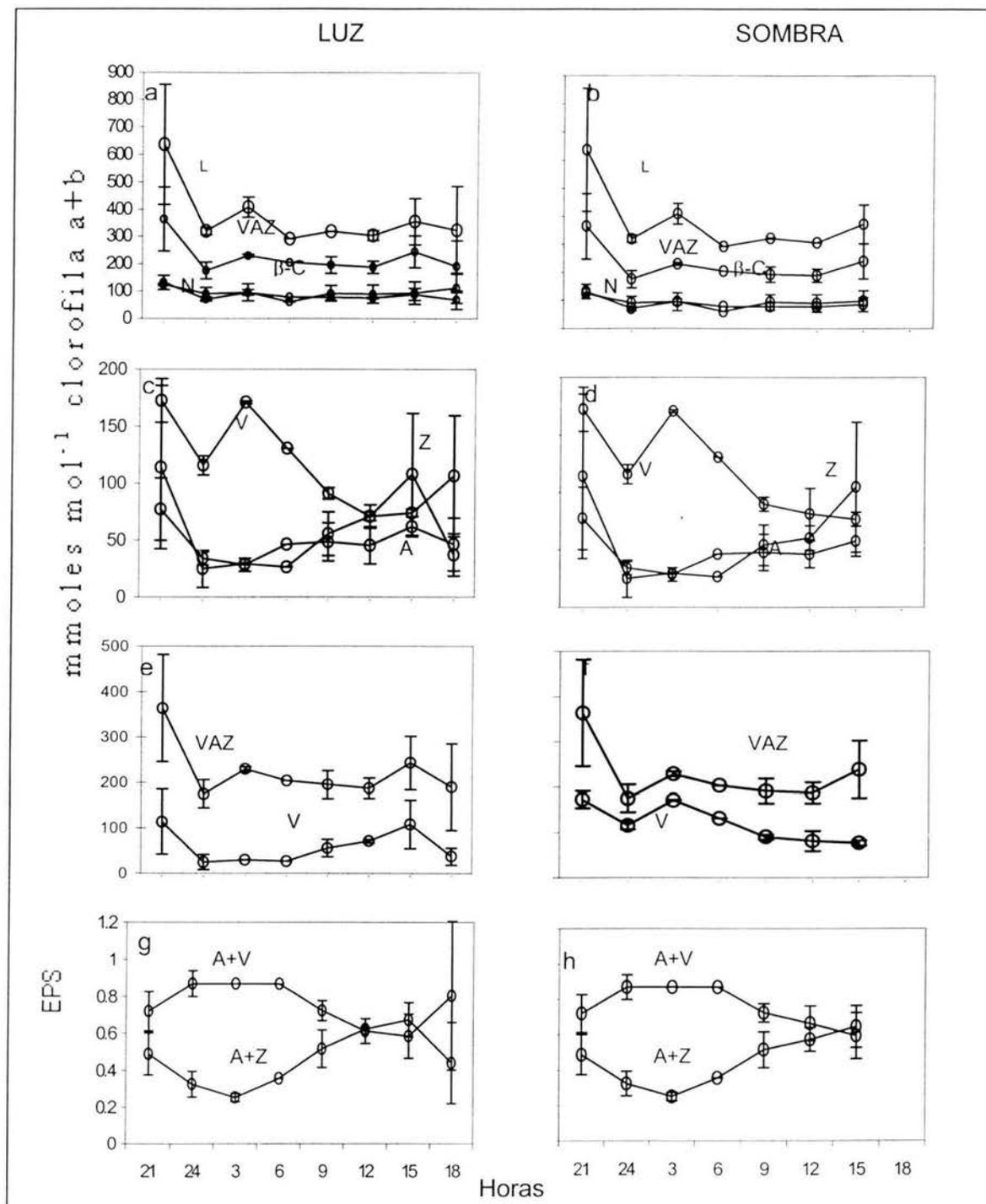


Figura 11. Composición de carotenoides (a-b), comportamiento del ciclo de las xantofilas (c-d), relación entre el contenido de zeaxantina el pool del ciclo de las xantofilas y la densidad de flujo protónico (e-f) y estados de epoxidación del ciclo de las xantofilas del lado iluminado y sombreado de la planta a través de un ciclo de 24 horas (g-h) presentes en *P. laevigata* asociada. Contenido de carotenoides en mMol mol<sup>-1</sup> de Cl a+b. Densidad de flujo fotónico en  $\mu\text{Mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; L:luteína; N:neoxantina; β-C:β-caroteno; A:anteraxantina; V:violaxantina; Z:zeaxantina; VAZ:pool del ciclo de las xantofilas; DFF:densidad de flujo fotónico; EPS:estado de epoxidación; A+Z =A+Z/VAZ; A+V= A+V/VAZ.

### **Composición de pigmentos en luz y sombra para *Prosopis laevigata* desarrollado en las terrazas aluviales.**

La concentración de clorofila a+b en las plantas desarrolladas sobre las terrazas aluviales fue de  $1920 \mu\text{Mol m}^{-2}$  del lado iluminado de la planta, mientras que del lado sombreado se registró una concentración de  $2128 \mu\text{Mol m}^{-2}$ . La proporción de clorofila a/b en condición de luz fue de 2.2 y en sombra 2.4 (Tabla 2).

Del total de carotenoides presentes en *Prosopis laevigata* desarrollada en las terrazas aluviales  $\beta$ -caroteno representó el 15% en ambas condiciones, luteína fue el principal carotenoide con 43% en luz y 44% en sombra, el pool del ciclo de las xantofilas constituyó el 31% y 30% respectivamente, por último neoxantina en condición de luz y sombra representó el 11% (Figura 9).

Durante el día en condición de sombra luteína registró el valor más alto a las 9 hrs con  $456 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$  y el más bajo a las 15 hrs con  $328 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ , durante las horas de oscuridad la concentración de luteína mantuvo niveles más altos que en las horas de luz; en la parte iluminada de la planta el valor más bajo de luteína también se registró a las 15 hrs ( $358 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ) y el más alto a las 18 hrs ( $502 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ). Neoxantina y  $\beta$ -caroteno mostraron el mismo comportamiento durante la noche en ambas condiciones, pero durante el día la concentración de neoxantina y  $\beta$ -caroteno en condición de luz fue más alta que en sombra. El comportamiento del pool del ciclo de las xantofilas respondió notablemente a los incrementos en las concentraciones de zeaxantina y violaxantina, de manera que no existieron grandes fluctuaciones entre las 21 y las 6 hrs; a las 9 hrs se observó que el contenido total de los pigmentos involucrados en el ciclo aumentó; posteriormente entre las 9 y las 15 hrs la concentración disminuyó hasta sus valores más bajos para volver a aumentar hacia las 18 hrs, este comportamiento se apreció en ambas condiciones aunque fue más marcado en condición de sombra (Figura 12 a-b).

El comportamiento de los pigmentos del ciclo de las xantofilas en condición de luz respondió directamente al aumento en la radiación. Violaxantina presentó altos niveles de las 21 a las 6 hrs que fue cuando alcanzó la concentración máxima ( $238 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ), hacia las 9 hrs se observó una fuerte disminución y continuó descendiendo hasta las 15 hrs cuando presentó su valor más bajo ( $74.3 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ), posteriormente ocurrió un incremento hacia las 18 hrs. Zeaxantina bajó su concentración entre las 21 y 6 hrs de 42 a  $19 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$  respectivamente, hacia las 9 hrs ocurrió un aumento de más de  $100 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$  en su concentración y continuó ascendiendo hacia las 12 hrs cuando alcanzó el valor más elevado ( $149 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ ), a partir de ésta hora comenzó a descender. Anteraxantina mantuvo un

nivel constante en las horas de oscuridad, entre las 6 y 9 hrs aumentó  $60 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$  y posteriormente descendió hasta las 15 hrs, hacia las 18 hrs se observó un nuevo incremento en su concentración (Figura 12 c-d).

En condición de sombra, violaxantina mostró un comportamiento muy semejante al observado en la parte iluminada de la planta, la diferencia más notable consistió en que el valor más bajo se presentó a las 12 hrs con  $71 \text{ mMol mol}^{-1} \text{ Cl a+b}$ . El comportamiento de anteraxantina fue el mismo que en condición de sombra. Zeaxantina presentó 3 momentos: en el primero se observó una baja entre las 21 y 6 hrs, seguido de un fuerte incremento entre las 6 y las 9 hrs por último, se apreció una disminución paulatina entre las 9 y las 18 hrs; es importante señalar que el aumento de concentración de zeaxantina fue mayor que el observado en condición de luz. En general los pigmentos del ciclo de las xantofilas en las horas del día presentaron valores inferiores a los del lado iluminado de la planta (Figura 12 c-d).

Los índices del EPS en condición de luz y sombra demostraron que durante la noche la forma dominante fue el di-epoxido y que a partir de las 9 hrs existió una fuerte reducción del ciclo que permitió a las formas menos oxigenadas encontrarse más concentradas; en la parte iluminada de la planta la máxima conversión se observó a las 12 hrs, mientras que en el lado sombreado se presentó a las 9 hrs; la disminución en la DFF en ambos casos ocasionó a las 18 hrs la reconversión del ciclo (Figura 12 g-h).

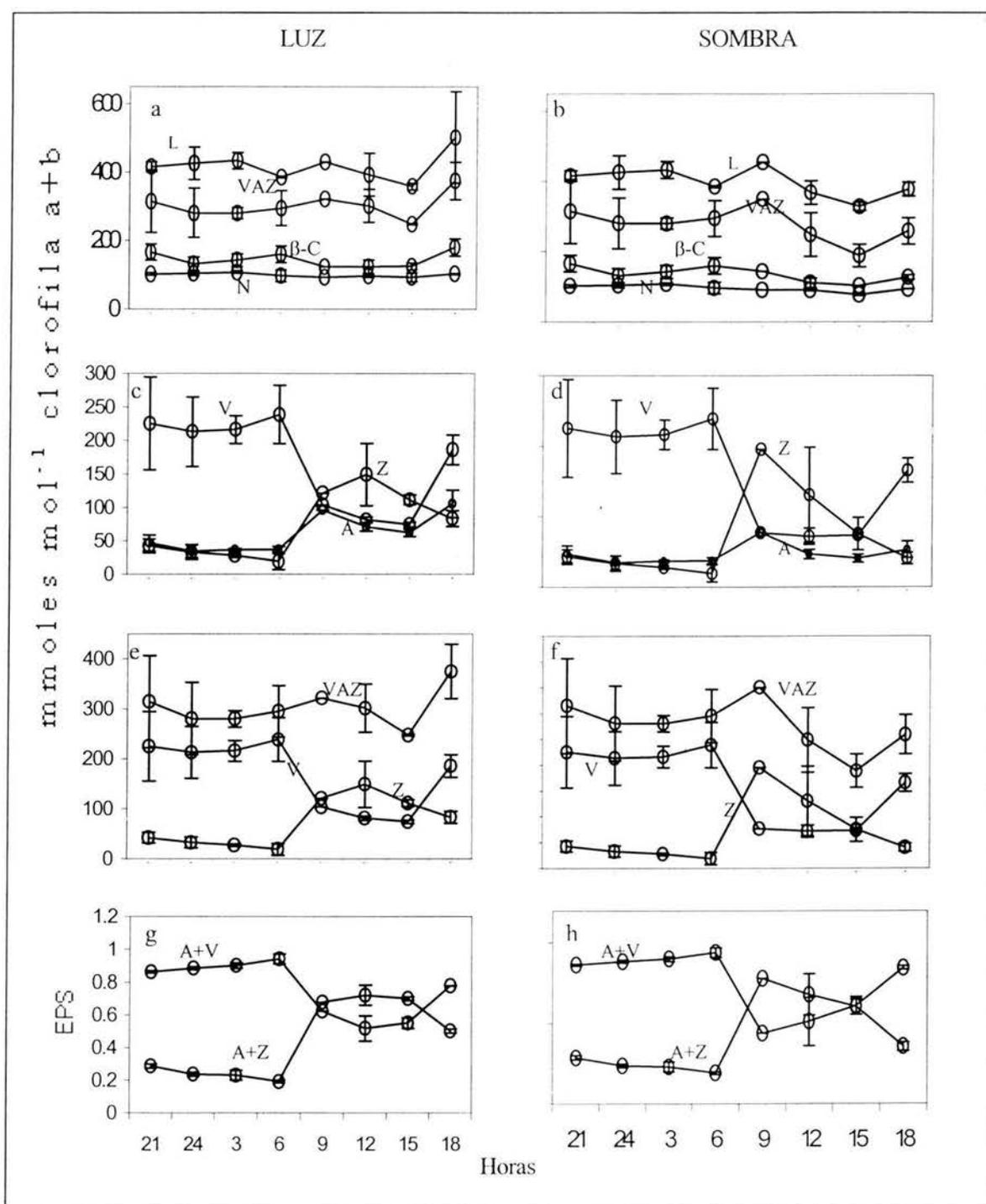


Figura 12. Composición de carotenoides (a-b), comportamiento del ciclo de las xantofilas (c-d), relación entre el contenido de zeaxantina el pool del ciclo de las xantofilas y la densidad de flujo fotónico (e-f) y estados de epoxidación del ciclo de las xantofilas del lado iluminado y sombreado de la planta a través de un ciclo de 24 horas (g-h) presentes en *P. laevigata* desarrollado en las terrazas aluviales. Contenido de carotenoides en  $\text{mmol mol}^{-1}$  Cl a+b. Densidad de flujo fotónico en  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . L:luteína, N:neoxantina, β-C:β-caroteno, A:antheraxantina, V:violaxantina, Z:zeaxantina, VAZ: pool del ciclo de las xantofilas, DFF: densidad de flujo fotónico, EPS: estado de epoxidación, A+Z= A+Z/VAZ, A+V= A+V/VAZ.

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### Análisis de *N. tetetzo*

El efecto de luz y sombra en lo referente a la concentración de clorofila a + b, se encontró bien marcado en condición de aislamiento y asociación, ya que, en ambos casos la cantidad de clorofila a + b fue mayor en la parte sombreada de la planta; de forma similar la respuesta de *N. tetetzo* a la asociación fue notable, puesto que, la concentración de clorofila a + b en esta condición aumentó en un 80% tanto en luz como en sombra; aunado a esto se observó que la proporción de clorofila a/b en aislamiento, se encontró por abajo del valor establecido por Goodwin (1988) para plantas superiores (3/1), en cambio la proporción de clorofila en condición de asociación cumplió precisamente con esta proporción. Un estudio realizado en esta misma especie demostró que las plantas asociadas presentaron una mayor captación de CO<sub>2</sub> (Flores, 2002). Relacionando estos resultados se puede proponer que las plantas desarrolladas en condición de asociación, al contener una mayor cantidad de clorofilas presentan una tasa fotosintética mayor y por lo tanto mayor productividad; evidenciando que el fenómeno de nodrizaje, tiene una fuerte influencia en los procesos fisiológicos que se llevan a cabo en las plantas desarrolladas bajo el dosel de *P. laevigata*, aún en etapas avanzadas de su crecimiento.

Los carotenoides reportados para *N. tetetzo* presentaron una relación muy clara en condición de aislamiento y asociación: luteína,  $\beta$ -caroteno y neoxantina disminuyen ligeramente su concentración en la parte iluminada de la planta, mientras que el pool del ciclo de las xantofilas aumenta.

En el caso de *N. tetetzo* en aislamiento, al analizar el comportamiento de los pigmentos del pool del ciclo individualmente, se observó que violaxantina disminuyó en condición de luz, mientras que anteraxantina y zeaxantina aumentaron; es importante señalar que zeaxantina experimentó un incremento de 100%, ya que en sombra constituyó el 5 % del total de carotenoides, mientras que en luz representó el 10%; en asociación este comportamiento se presentó en menor escala, ya que el aumento de zeaxantina resultó ser solamente de 23%. Estos resultados muestran que la disipación de la radiación ocasionada por el follaje de *P. laevigata*, determina que haya un aumento menor de zeaxantina en *N. tetetzo* asociada, puesto que no se necesita disipar tanta energía; en cambio en *N. tetetzo* aislada, al no contar con la protección brindada por la sombra del arbusto, ocurre un fuerte aumento en la concentración de zeaxantina necesario para disipar energía luminosa a través del ciclo de las xantofilas.

A lo largo del día la concentración de luteína disminuyó al aumentar la DFF, tanto en aislamiento como en asociación, en luz y sombra. El comportamiento del pool del ciclo de las xantofilas, se encontró estrechamente vinculado a la relación existente entre violaxantina y zeaxantina en ambas condiciones; de tal forma que se pudo observar en condición de luz una alta concentración de zeaxantina cuando aumentó la DFF; sin embargo, en ninguno de los dos casos la máxima irradiación correspondió a la concentración máxima de zeaxantina, ya que en situación de aislamiento la mayor concentración de zeaxantina se presentó a las 15 hrs, cuando la irradiación ya está en descenso, mientras que en asociación se presentó un fenómeno particular, dado que la concentración de zeaxantina aumentó fuertemente a las 9 hrs, pero disminuyó al medio día justo cuando se presentó la máxima irradiación, y vuelve a aumentar hacia las 15 hrs. Se interpretaron estos resultados en función de dos factores: la anatomía de la planta y su situación de asociación. La superficie de exposición a la luz en una cactácea columnar es mayor cuando los rayos llegan perpendiculares a ella, es decir, en el transcurso de la mañana y de la tarde; en cambio cuando el sol se encuentra en el cenit, la verticalidad de la planta, aunada a la verticalidad de los rayos del sol, determinan una menor área de exposición, de manera que la mayoría de la luz que recibe la planta es reflejada del medio, ocasionando que disminuya la irradiación incidente sobre el tallo; por otro lado, la asociación ocasiona que el follaje de *P. laevigata* absorba y disperse la luz alrededor del tallo, al igual que las espinas de la propia planta, de manera que la radiación incidente sobre este se reduce considerablemente, ocasionando así la disminución en la concentración de zeaxantina a las 12 hrs.

Las condiciones expuestas anteriormente ocasionaron a su vez, que en la parte sombreada de esta planta, los pigmentos del ciclo de las xantofilas no mostraran diferencias significativas entre ellos, inclusive su comportamiento diurno, no muestra que se haya presentado el ciclo en esta condición. En contraste la parte sombreada de *N. tetetzo* aislado, mostró una disminución de violaxantina en función del aumento en la DFF; por otro lado, zeaxantina presentó un gran aumento en las primeras horas de la mañana, a las 12 hrs. disminuyó considerablemente y a las 15 hrs volvió a aumentar, este comportamiento es muy semejante al observado en *N. tetetzo* asociada en condición de luz, apoyando así la idea acerca de la disminución en la irradiación por la verticalidad de la planta.

Los resultados encontrados en *N. tetetzo* en aislamiento y asociación muestran que en condición de luz, el pigmento que determinó el comportamiento del pool del ciclo de las xantofilas fue zeaxantina, ya que existe una estrecha correlación a lo largo del

día entre la concentración de zeaxantina y el comportamiento del pool del ciclo; en cambio en la parte sombreada de la planta, la trayectoria que siguió el pool del ciclo obedece a las fluctuaciones que se dan en las concentraciones de zeaxantina y violaxantina. En *N. tetetzo* aislado en sombra y en *N. tetetzo* asociado en luz, el pigmento que determinó el comportamiento del pool del ciclo fue zeaxantina, ya que existe una estrecha correlación a lo largo del día entre estos parámetros. El comportamiento de *N. tetetzo* aislado en condición de luz se encuentra muy influenciado por zeaxantina, pero la correlación es inferior; en cambio en *N. tetetzo* asociada en sombra el comportamiento del pool de ciclo obedece a las fluctuaciones que se presentan en las concentraciones de todos los pigmentos involucrados.

Los índices del EPS que presentó *N. tetetzo* en aislamiento, muestran claramente el funcionamiento del ciclo de las xantofilas, y revelaron que para esta especie en condición de luz fue donde se presentó el ciclo de las xantofilas más desarrollado, ya que el comportamiento a lo largo del día de ambos índices de epoxidación, mostró notablemente el cambio en el estado del ciclo a partir del aumento en la irradiación, y mostró también la diferencia que existe entre el lado iluminado y sombreado de la planta; durante las horas de oscuridad ambas partes muestran un comportamiento análogo, pero cuando aumenta la DFF se observó inmediatamente la conversión del ciclo, sin embargo, fue en la parte iluminada en donde se encontró la diferencia más drástica, ya que en las horas de alta irradiación el valor de los índices fue totalmente opuesto; en cambio, en sombra a pesar de que sí se presentó la conversión de las xantofilas, esta fue en menor grado dado que los índices del EPS mantuvieron valores intermedios, de tal forma que en condición de luz el EPS presentado por *N. tetetzo* indica un alto desarrollo del ciclo de las xantofilas; esto tiene estrecha relación con el aumento de 100% que se observó en la concentración de zeaxantina bajo esta condición.

En *N. tetetzo* asociada, los índices de EPS no son tan claros, en primer lugar, porque a las 24 hrs se presentó un incremento inusual de anteraxantina y zeaxantina, y en segundo lugar porque los índices del EPS durante las horas de oscuridad no fueron tan marcados, aunque en la parte iluminada de la planta sí se observó la conversión del ciclo de manera importante; sin embargo, el fenómeno más importante que se observó en *N. tetetzo* asociada fue el comportamiento diurno de los índices de EPS en sombra, ya que a lo largo del día solamente a las 12 hrs. existió una diferencia significativa entre ambos índices; esto indica que no hubo conversión del ciclo de las xantofilas o que si lo hubo, la mayor parte del ciclo se encontró en su forma intermedia, pero no se completó

el ciclo, por lo tanto en *N. tetetzo* asociada del lado sombreado de la planta se presentó el ciclo de las xantofilas menos desarrollado para esta especie.

Todas estas consideraciones muestran tres aspectos importantes: primero, la alta sensibilidad y rápida respuesta de los pigmentos involucrados en el ciclo de las xantofilas, evidenciando la eficiencia del proceso de disipación térmica en esta especie bajo condición de luz; segundo, que el funcionamiento del ciclo de las xantofilas en esta especie es diferencial dependiendo de las condiciones de irradiación del medio, por ultimo, el fenómeno de nodrizaje tiene una influencia directa y determinante en el proceso de disipación térmica presente en esta especie.

### **Análisis de *P. laevigata***

El contenido de clorofila a+b presente en *P. laevigata*, resultó ser más elevado del lado sombreado de la planta en las diferentes condiciones de desarrollo: aislamiento, asociación y terrazas aluviales, así se demostró que esta especie también respondió a la condición de luz y sombra, a pesar de que en esta planta no es tan marcado el cambio en la intensidad de irradiación como para la cactacea.

Las plantas que se desarrollan en la zona del jardín botánico, tanto aisladas como asociadas, presentaron las mismas proporciones de clorofila a/b en la parte iluminada y sombreada de la planta, así como valores muy semejantes entre aislamiento y asociación, 2.8 y 2.7 respectivamente.

Comparando estos resultados con los obtenidos en *N. tetetzo* en condición de aislamiento, se puede establecer que en este estudio todas las plantas analizadas que se desarrollan en el jardín botánico, mantuvieron una proporción ligeramente inferior a la reportada en plantas superiores para su desarrollo óptimo, con excepción de *N. tetetzo* en asociación, la cual si mantuvo precisamente esta proporción; por una parte, estos datos representan una evidencia directa de que las condiciones ambientales extremas, someten a las plantas a diversos factores de estrés que repercuten en su metabolismo, y además, demuestran que el fenómeno de nodrizaje atenúa estos factores de estrés, permitiéndole a las plantas huésped desarrollarse adecuadamente y presentar una taza fotosintética mayor.

En el caso de *P. laevigata* desarrollada en las terrazas aluviales es importante señalar que, aquí fue donde se encontraron las concentraciones y proporciones de clorofilas más bajos para esta especie tanto en luz como en sombra; esto puede ser consecuencia de la edad de las hojas, ya que en las terrazas aluviales la disponibilidad de agua permite a la planta generar follaje nuevo durante la mayor parte del año.

El porcentaje de cada uno de los carotenoides en las distintas condiciones de desarrollo e irradiación, resultó ser homogénea en la mayoría de los casos. El pigmento más constante fue neoxantina, ya que en todas las condiciones constituyó el 11 %; posteriormente  $\beta$ -caroteno presentó gran regularidad, ya que mostró las mismas proporciones del lado iluminado al lado sombreado de la planta en todas las condiciones de desarrollo, aunque entre estas sí se observaron diferencias, pues las plantas que se desarrollan en las terrazas aluviales aumentaron un 3% con relación a las desarrolladas en el jardín. Por su parte luteína presentó diferentes valores en cada condición, que oscilaron entre 43 y 48%; sin embargo, el rasgo sobresaliente con este carotenoide es su tendencia a disminuir en la parte iluminada de la planta en cualquier condición de desarrollo al igual que en *N. tetetzo*, semejando así el comportamiento de violaxantina; Bungard et al, (1999) han sugerido que la enzima violaxantin de-epoxidasa utiliza también como sustrato a luteína, inclusive han planteado la existencia de un nuevo ciclo de las xantofilas a través de esta vía; los resultados obtenidos en *P. laevigata* y *N. tetetzo* son nuevas evidencias que apoyan la existencia de este ciclo de luteína.

Aunque la concentración de violaxantina fue diferente de una condición a otra, su comportamiento a lo largo del día si fue homogéneo, respondiendo al aumento en la DFF disminuyendo durante las horas de mayor irradiación, además de encontrarse ligeramente más concentrado en el lado sombreado de la planta. El incremento en la irradiación también originó el aumento en la concentración de anteraxantina y zeaxantina en todas las condiciones de desarrollo, sin embargo, el comportamiento de ambos pigmentos a lo largo del día resultó ser muy heterogéneo, así que no se pueden establecer regularidades en el comportamiento diurno de estos pigmentos, la única variable que se mantuvo fue la alta concentración de zeaxantina del lado iluminado de las plantas, en todas las condiciones de desarrollo.

Es importante señalar que el pool del ciclo de las xantofilas en esta especie se encuentra fuertemente influenciado por el comportamiento de violaxantina, provocando así que exista una relación inversamente proporcional entre el pool del ciclo y la DFF. Por último, los EPS obtenidos mostraron que en el caso de los individuos de *P. laevigata* desarrolladas en el jardín, la forma predominante del ciclo fué el di-epòxido, ya que a pesar del incremento en la concentración de zeaxantina durante las horas de mayor irradiación, el estado del ciclo mantuvo una predominancia de las formas más oxidadas. Esto indica que para esta especie el proceso de disipación térmica a través del ciclo de las xantofilas no es la principal estrategia de fotoprotección; por las observaciones realizadas en campo se considera que antes de esta, se podría

encontrar el movimiento de las hojas para reducir la superficie de exposición a la luz. En cambio el EPS obtenido en *P. laevigata* desarrollado en las terrazas aluviales, es el único que mostró la suficiente desepoxidación del ciclo para que predomine la forma reducida durante las horas de mayor irradiación, aunque no tan claramente como en *N. tetetzo*; esto puede tener relación con la edad de las hojas, ya que al encontrarse todavía formando pigmentos fotosintéticos es posible que necesite una mayor concentración de pigmentos fotoprotectores.

En resumen, el análisis de los resultados obtenidos permiten establecer, que existen suficientes evidencias para confirmar la hipótesis sobre los beneficios que la asociación brinda a *N. tetetzo*, los cuales no sólo se limitan a la etapa de la germinación de las semillas y el desarrollo y establecimiento de las plántulas, sino que, contribuye a disminuir los factores de estrés en los que crecen estas plantas, aun en etapas avanzadas de su desarrollo; en particular el causado por exceso de irradiación, permitiéndole a la planta desarrollar una tasa fotosintética mayor, repercutiendo así en su productividad. Al confirmar esta hipótesis se sugiere que al lado de las adaptaciones morfológicas y mecanismos metabólicos, para evitar el estrés, se tomen en cuenta los factores ecológico-evolutivos de las especies, como el nodrizaje.

## CONCLUSIONES

El fenómeno de nodrizaje contribuye a disminuir los factores de estrés en los que se desarrolla *N. tetetzo*, aun en etapas avanzadas de su desarrollo.

El contenido de clorofila a + b fue mayor en la parte sombreada de la planta en ambas especies y en todas las condiciones de desarrollo.

La proporción de clorofila a/b fue ligeramente inferior a la reportada en plantas superiores para su desarrollo óptimo, en todas las plantas analizadas, con excepción de *N. tetetzo* en asociación.

El ciclo de las xantofilas más desarrollado se presentó en *N. tetetzo* aislada en condición de luz.

El ciclo de las xantofilas menos desarrollado se presentó en *N. tetetzo* asociada del lado sombreado de la planta.

Luteína disminuye en la parte iluminada de la planta en ambas especies y en todas las condiciones de desarrollo.

Neoxantina constituye el 11 % del total de pigmentos en *P. laevigata* en todas las condiciones de desarrollo.

## REFERENCIAS

- Adams, W.W. III., Demmig-Adams, B. 1992. Operation of the xanthophyll cycle in higher plants in response to diurnal changes in incident sunlight. *Planta* 186: 390-398.
- Adams, W.W. III., Demmig-Adams, B; Winter. 1990. Relative contributions of zeaxanthin-related and zeaxanthin-unrelated types of "high-energy-state" quenching of chlorophyll fluorescence in spinach leaves exposed to various environmental conditions. *Plant Physiol* 92:302-9.
- Adams, W W. III., Díaz, M., Winter, K. 1989. Diurnal changes in photochemical efficiency, the reduction state of Q, radiationless energy dissipation, and non-photochemical fluorescence quenching in cacti exposed to natural sunlight in northern Venezuela. *Oecologia*. 80: 553-561.
- Adams, W III., Smith, S., Osmond, C. 1987. Photoinhibition of the CAM succulent *Opuntia basilaris* growing in Death Valley: evidence from 77 K fluorescence and quantum yield. *Oecologia*. 71: 221-228.
- Asada, K., Takahashi, M. 1987. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1992. 43: 621.
- Azcon-Bieto y Talon. 1993. *Fisiología y Bioquímica Vegetal*. McGraw-Hill-Interamericana de España. España.
- Bilger, W., Björkman, O. 1991. Temperature dependence of violaxanthin de-epoxidation and non-photochemical fluorescence quenching in intact leaves of *Gossypium hirsutum* L. and *Malva parviflora* L. *Planta* 184:226-34.
- Bilger, W., Björkman, O., Thayer, S.S. 1989. Light-induced spectral absorbance changes in relation to photosynthesis and the epoxidation state of xanthophyll cycle components in cotton leaves. *Plant Physiol* 91:542-51.
- Björkman, O., Demmig, B. 1987. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170:489-504.
- Björkman, O. and Powles, S. 1981. Leaf movement in the shade species *Oxalis oregana*. I. Response to light level and light quality. *Carnegie Inst Wash. Yearb.* 80: 59-62.
- Björkman, O. And Schafer, C. 1989. A gas exchange-fluorescence analysis of photosynthetic performance of a cotton crop under high-irradiance stress,. *Philos. Trans. R. Soc. London ser . B* 323:309-311.
- Bouvier. F, D'Harlingue. A, Huguenev.P, Marin. E, Marion-Poll. A, Camara. B. 1996. Xanthophyll biosynthesis: cloning, expression, functional reconstitution,

- and regulation of beta-cyclohexenyl carotenoid epoxidase from pepper (*Capsicum annuum*). *J. Biol. Chem.* 271:28861-28867.
- Bravo-Holis, H. 1978. *Las Cactaceas de México*. 2 ed. UNAM. Mexico. pp743.
  - Bratt, C, Arvidsson, P, Carlsson, M, Akerlund, H. 1995. Regulation of violaxanthin de-epoxidase activity by pH and ascorbate concentration. *Photosynth Res.* 45: 169-175.
  - Bugos, R.C., Yamamoto, H.Y. 1996. Molecular cloning of violaxanthin de-epoxidase from romaine lettuce and expression in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 93: 6320-6325.
  - Bungard, R.A., Ruban, A.V., Hibberd, J.M., Press, M.C., Horton, P., Scholes, J.D. 1999. Unusual carotenoid composition and a new type of xanthophyll cycle in plants. *Proc Natl Acad Sci USA.* 96: 1135-1139.
  - Byers, D.S. 1967. *The prehistory of the Tehuacán Valley: Environment and Subsistence*. Tomos I. University of Texas Press.
  - Casas, A. y Caballero, J. 1995. Domesticación de plantas y origen de la agricultura en Mesoamérica. *Ciencias* 40: 36-45.
  - Dávila, P; Villaseñor, J.L; Medina, R; Ramírez, R. Salinas, T; Sánchez-Ken y Tenorio, L. 1993. Listados florísticos de México X. Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Inst. Biol., UNAM. Méx.*
  - Demmig, B., Winter, K., Krüger, A., Czygan, F. C. 1988. Zeaxanthin and the heat dissipation of excess light energy in *Nerium oleander* exposed to a combination of high light and water stress. *Plant Physiol.* 87:17-24.
  - Demmig-Adams, B., Adams, W.W. III, Czygan, f.C., Schreiber, U., Lange, O. L. 1990. Differences in the capacity for radiationless energy dissipation in green and blue-green algal lichens associated with differences in carotenoids composition. *Planta* 180:582-89.
  - Demmig-Adams, B., Winter, K., Krüger, A., Czygan, F. C. 1989. Light stress and photoprotection related to the carotenoid zeaxanthin in higher plants. *Photosynthesis*. New York: Alan R. Liss, Inc.
  - Devlin, R. 1980. *Fisiología Vegetal*. Omega. Barcelona.
  - Ehleringer, J. R. 1988. Changes in leaf characteristics of species along elevational gradients in the Waatch Front, Utah. *Am. J. Bot.* 75:680-89.
  - Flores, C. 2002. Comunicación personal.
  - Forseth, I. and Ehleringer, J. 1980. Solar tracking response to drought in a desert annual. *Oecologia.* 44: 159-163.

- Foyer, C. H., Lelandais, M., Edwards, E. A., Mullineaux, P. M. 1991. The role of ascorbate in plants, interactions with photosynthesis and regulatory significance. *Limnol. Oceanogr.* 28:131-44.
- Gamble, P. W., Burke, J. J. 1984. Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system. I. alterations in glutathione reductase activity. *Plant Physiol.* 76:615-21.
- Gamon, J. A., Pearcy, R. W. 1989. Leaf movement, stress avoidance and photosynthesis in *Vitis californica*. *Oecologia* 79:475-81.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía, UNAM, México. 153 p.
- Genty, B, Briantais, J. M., Baker, N. R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem. Biophys. Acta* 990:87-92.
- Gillham, D. J., Dodge, A. D. 1987. Chloroplast superoxide and hydrogen peroxide scavenging systems from pealeaves: seasonal variations. *Plant Sci.* 50:105-9.
- Gilmore, A. and Yamamoto, H. 1991. Zeaxanthin-dependent and independent nonphotochemical quenching are resistant to antimycin in proportion to  $\Delta$ pH. *Plant Physiol. Suppl.* 96: 119.
- Goodwin, T.W. 1988. *Plant Pigments* Academic Press Inc. Londres.
- Goodwin, T.W. 1976. *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments Vol 2.* Academic Press Inc. Londres. pp 373.
- Granados, D. 1996. El Mezquite: el árbol del desierto. *Ciencias Forestales.*1: 37-51.
- Gross, J. 1991. *Pigments in Vegetables.* C R C Press. U.S.A.
- Hager, A. 1980. The reversible, light-induced conversions of xanthophylls in the chloroplast. In *Pigments in Plants*, ed. F. C. Czygan, pp.57-79. Stuttgart: Fischer.
- Hager, A., Holocher, K. 1994. Localization of the xanthophyll-cycle enzyme violaxanthin de-epoxidase within the thylakoid lumen and abolition of its mobility by a (light-dependent) pH decrease. *Planta* 192: 581-589.
- Horton, P., Ruvan, A.V., Rees, D., Pascal, A.A., Noctor, G., Young, A.J. 1991. Control of the light-harvesting function of chloroplast membranes by aggregation of the LHCII chlorophyll-protein complex. *FEBS Lett* 292: 1-4.
- Khamis, S., Lamaze, T., Lemoine, Y., Foyer, C. 1990. Adaptation of the photosynthetic apparatus in maize leaves as a result of nitrogen limitation. *Plant Physiol.* 94:1436-43.

- Krinsky, N. I. 1979. Carotenoid protection against oxidation. *Pure Appl. Chem.* 51:649-60.
- Ludlow, M M., Björkman, O. 1984. Paraheliotropic leaf movement in *Siratro* as a protective mechanism against drought-induced damage to primary photosynthetic reactions: damage by excessive light and heat. *Planta* 161:505-18.
- Ludlow, M M., Samarakoon, S. P. , Wilson, J. R. 1988. Influence of light regime and leaf nitrogen concentration on 77 K fluorescence in leaves of four tropical grasses: no evidence for photoinhibition. *Aust. J. Plant Physiol.* 15:669-76.
- Mercadante,A; Rodríguez-Amaya, D y Britton, G. 1997. HPLC and Mass Spectrometryc Analysis of Carotenoids from Mango. *J. Agric. Food. Chem.* Vol. 45 (1):120-123.
- Minguez-Mosquera, M; Gandul-Rojas, B; Gallardo-Guerrero, M. 1992. Rapid Method of Quantification of Chlorophylls and Carotenoids in Virgin Olive Oil by High-Performance Liquid Chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 40 (1):60-63.
- Minguez-Mosquera, M y Hornero-Méndez; D. 1993. Separation and Quantification of the Carotenoid Pigments in Red Peppers (*Capsicum annum* L.), Paprika, and Oleoresin by Reversed-Phase HPLC. *J. Agric. Fodd. Chem.* Vol. 41(10): 1616-1620.
- Morales, F., Abadia, A., Abadia, J. 1990. Characteritation of the xanthophyll cycle and other photosynthetic pigment changes induced by iron deficiency in sugar beet. (*Beta vulgaris* L). *Plant Physiol.* 94:607-13.
- Mostafa, K.T; Osama, A; El-kholi, E; El-hinnawi, M.W; Holdgate, D.F; Mcmichael y munn, R.E. 1992. *The World Environment 1972-1992: two decades of challenge.* Chapman and Hall. 884 p.
- Müller, P., Li, X., Niyogi, K. 2001. Non-Photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant. Physiology.* 125: 1558-1566.
- Neubauer, C. and Yamamoto, H. 1991. The Mehler-peroxidase reaction generates the  $\Delta\text{pH}$  that is required for zeaxanthin-related fluorescence quenching. *Plant Physiol. Suppl.* 96:119.
- Razungles, A; Babic, I; Sapis, J; Bayonove, C. 1996. Particular Behavior of Epoxy Xanthophylls during Veraison and Maturation of Grape. *J. Agric. Food. Chem.* Vol. 44(12):3821-3825.
- Rees, D. and Horton, P. 1990. The mechanisms of changes in photosystem II efficiency in spinach thylacoids. *Biochi: Biophys. Acta* 1016: 219-227.

- Rees, D., Young, A., Noctor, G., Britton, G., Horton, P. 1989. Enhancement of the pH-dependent dissipation of excitation energy in spinach chloroplasts by light-activation; correlation with the synthesis of zeaxanthin. *FEBS Lett.* 256:85-90.
- Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Editorial limusa. México. 432 p.
- Schreiber, U. and Neubauer, C. 1987. The Polyphasic rise of chlorophyll fluorescence upon onset of strong continuous illumination: II. Partial control by the photosystem II donor side and possible ways of interpretation. *Z Naturforsch.* 42c: 1255-1264.
- Schreiber, U., Reising, H., Neubauer, C. 1991. Contrasting pH-optima of light-driven O<sub>2</sub><sup>-</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-reduction in spinach chloroplasts as measured via chlorophyll fluorescence quenching. *Z Naturforsch.* 46c: 635-643.
- Siefermann-Harms, D. 1977. The xanthophyll cycle in higher plants. In *Lipids and Lipid Polymers in Higher Plants*, ed. M. Tevini, H. K. Lichtenthaler, pp. 218-30. Berlin: Springer.
- Siefermann-Harms, D. 1987. The light harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. *Physiol. Plant.* 69:561-68.
- Siefermann, D and Yamamoto, H. 1976. Light-induced de-epoxidation in lettuce chloroplasts. VI. De-epoxidation in grana and stroma lamellae. *Plant Physiol.* 57: 939-940.
- Sujak, A., Gabrielska, J., Grudzinski, W., Borc, R., Mazurek, P., Gruszecki, W.I. 1999. Lutein and zeaxanthin as protectors of lipid membranes against oxidative damage: the structural aspects. *Arch Biochem Biophys* 371: 301-307.
- Taiz, L., and Zeiger, E. 1991. *Plant Physiology*. The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc. California U.S.A. pp559.
- Tardy, F., Havaux, M. 1997. Thylakoid membrane fluidity and thermostability during the operation of the xanthophyll cycle in higher-plant chloroplasts. *Biochim Biophys Acta* 1330: 179-193
- Valiente-Banuet, A; y Ezcurra, E. 1991. Shade as a cause of the association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse shrub *Mimosa luisina* in the Tehuacan Valley, Mexico. *J. of Ecology.* 79:961-971.
- Villaseñor, J.L.; Dávila, P. y Chiang, F. 1990. Fitogeografía del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot. México.* 50:135-149.
- Winter, K., Königer, M. 1989. Dithiothreitol, an inhibitor of violaxanthin de-epoxidation, increases the susceptibility of leaves of *Nerium oleander* L. to photoinhibition of photosynthesis. *Planta* 180:24-31.

- Yamamoto, H. Y. 1979. Biochemistry of the violaxanthin cycle in higher plants. *Pure Appl. Chem.* 51:639-48.
- Yamamoto, H. Y. and Kamite, L. 1972. The effects of dithiothreitol on violaxanthin de-epoxidation and absorbance changes in the 500-nm region. *Biochem. Biophys. Acta.* 267:538-43.
- Young, A. and Britton, G. 1990. Carotenoids an Stress. In *Stress Responsees in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms*, Aca. Press. p 87-112.

## **AGRADECIMIENTOS**

Mis más sinceros agradecimientos:

A la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme ser parte de ella.

Al M. en C. Cesar Mateo Flores Ortiz por su confianza, paciencia; por darme la libertad de decidir el rumbo de éste proyecto y por respetar mis ideales

A la M. en C. Josefina Vásquez Medrano por darme la oportunidad de compartir mis conocimientos y experiencias con las nuevas generaciones

Al biólogo Luis Barbo Hernández Portilla por su paciencia, por compartir conmigo sus conocimientos.

A Cesar F. por sus consejos, apoyo y amistad.

A Jóse y a Rafa por su sencillez y honestidad, por su gran calidad humana.

A Luis Barbo por su amistad

Al D. en C. Ignacio Peñalosa Castro, Al M. en C. Hugo Perales , al M. en C. Sergio González, Al M. en C. Ernesto Aguirre; por sus observaciones y comentarios en la revisión de este trabajo.

A la DGAPA por los recursos aportados a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) al proyecto no. IN210101.

Al Programa de Becas para Tesis de Licenciatura (PROBETEL) por el apoyo recibido.

A mi madre por su apoyo, por impulsarme a seguir adelante, por su comprensión

A Claudia y Diana por compartir conmigo los años felices, los sueños y las esperanzas; por sus palabras de aliento, por ayudarme a continuar estudiando

A Tzinary y Ahembeck por darle alegría a nuestra casa.

A Renata por su apoyo y ayuda por todo lo que me enseñaste, por ayudarme a ser mejor, por el tiempo que vivimos, por quererme tanto.

A Circe por que al mirar tus ojos miro los míos, por que a través de tus manos me encuentro, por que en tus palabras me reconozco, por que me habitas, por que al soñar sueño contigo y por que al verte acaricio un dulce sueño.