



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**  
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE BOTÁNICA

**Biomasa y análisis bioquímico en teocintle perenne  
(*Zea diploperennis* Iltis, Doebley y Guzmán) en  
diferentes etapas fenológicas**

**NÉSTOR JORGE ROJAS VICTORIA**

**T E S I S**  
**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**  
**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO**

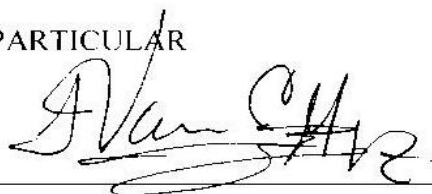
**2010**

La presente tesis titulada “**Biomasa y análisis bioquímico en teocintle perenne (*Zea diploperennis* Iltis, Doebley y Guzmán) en diferentes etapas fenológicas**”, fue realizada por el alumno **Néstor Jorge Rojas Victoria**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS  
BOTÁNICA**

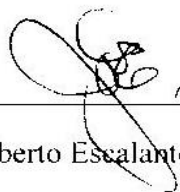
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO Y DIRECTOR \_\_\_\_\_



Dr. F. Víctor Conde Martínez

ASESOR \_\_\_\_\_



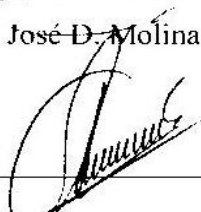
Dr. José Alberto Escalante Estrada

ASESOR \_\_\_\_\_



Dr. José D. Molina Galán

ASESOR \_\_\_\_\_



M.C. Antonio García Esteva

Montecillo, Texcoco, Estado de México, 2010

# **Biomasa y análisis bioquímico en teocintle perenne (*Zea diploperennis* Iltis, Doebley y Guzmán) en diferentes etapas fenológicas**

Néstor Jorge Rojas Victoria, M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2010.

## **RESUMEN**

El teocintle perenne (*Zea diploperennis*) es endémico de la Sierra de Manantlán en el sur de Jalisco, se considera una especie con cierto valor forrajero en las regiones de origen y en regiones con escasas precipitaciones. Presenta una alta capacidad de adaptación a distintos ambientes y además se considera tolerante a siete de nueve enfermedades producidas por virus, hongos y bacterias (espiroplasmales) que atacan al maíz. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la producción de biomasa, la dinámica de acumulación de azúcares e identificación de proteínas en diferentes órganos de teocintle, en distintas etapas fenológicas. El estudio se realizó en los invernaderos del Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. Se sembraron semillas de teocintle y de maíz (V107) en macetas con 6 Kg de suelo y la humedad se mantuvo a capacidad de campo. Se evaluaron cuatro etapas fenológicas: vegetativa (25 días después de la emergencia “dde”), vegetativa-avanzada (50 dde), prefloración (75 dde) e inflorescencia (90 dde). Las variables fueron altura de la planta, área foliar, materia seca y contenido de azúcares solubles y caracterización de proteínas. Los resultados a los 90 dde (inflorescencia) indicaron que la altura de las plantas de teocintle alcanzó 1.62 m, con un incremento en promedio de 0.9 cm día<sup>-1</sup>. Estos valores fueron similares a los de maíz V-107 (1.64 m) en la misma etapa, mientras que el área foliar en maíz (446 cm<sup>2</sup>) fue mayor que en teocintle (224 cm<sup>2</sup>) a los 90 dde. El tallo fue el órgano con mayor aporte de materia seca a los 90 dde en ambas especies. Los valores de la acumulación de azúcares solubles fueron similares en teocintle y en maíz (8.0 y 9.0 mg g<sup>-1</sup> de peso fresco (PF), respectivamente), y esta en función de la etapa fenológica y del órgano de la planta. La distribución de glucosa, fructosa y sacarosa fue variable y se modificó conforme al crecimiento. La glucosa y fructosa fueron los azúcares más abundantes en las primeras etapas de crecimiento, y la sacarosa se incrementó en la etapa de inflorescencia. La máxima concentración de proteínas solubles en teocintle se observó en la lámina foliar y en la etapa de inflorescencia (6.0 mg g<sup>-1</sup> P.F.), mientras que para maíz este valor fue más alto (15.7 mg g<sup>-1</sup> P.F.). La expresión de proteínas más relevantes fueron la Fosfoenol piruvato carboxilasa (104 kDa) y a la subunidad mayor de la Ribulosa bisfosfato carboxilasa (55 kDa). Ambas proteínas son características de plantas de maíz que presentan un tipo de metabolismo C4.

**Palabras clave:** *Zea diploperennis*, *Z. mays* L., materia seca, azúcares solubles, proteínas solubles.

# **Biomass and biochemical analysis in perennial teosinte (*Zea diploperennis* Iltis, Doebley y Guzmán) at different phenological stages**

Néstor Jorge Rojas Victoria, M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2010.

## **SUMMARY**

Perennial teosinte (*Zea diploperennis*) is endemic from Sierra de Manantlán in the South of Jalisco and it is considered a species with certain fodder value in the regions of its origin and in regions with low amount of precipitation. It possesses a high ability of adaptation to different environments, and it is tolerant to seven to nine disease produced by viruses, fungi and bacteria (spiroplasmas) that affect maize. The objective of this investigation was to evaluate the biomass production and the dynamics of the accumulation of sugars, and to identify proteins in different organs of teosinte at different phenological stages. The study was carried out in the greenhouse at Colegio de Postgraduados, Montecillo, Mexico. Seeds of teosinte and maize (V107) were sown in pots with 6 kg of soil, and the humidity of the soil was maintained at field capacity. Four phenological stages were evaluated: vegetative (25 days after emergence, dae), vegetative-advanced (50 dae), pre-flowering (75 dae) and inflorescence (90 dae). The variables under study were height, leaf area, dry matter, and sugar content and protein characterization. The results at 90 dae (inflorescence) indicated that the height of teosinte reached 1.62 m, with an average increase of 0.9 cm day<sup>-1</sup>. These values were similar to those of maize V-107 (1.64 m) at the same stage, while leaf area in maize (446 cm<sup>2</sup>) was higher than in teosinte (224 cm<sup>2</sup>) at 90 dae. The stem was the organ with the highest contribution to the dry matter at 90 dae in both species. The values for the accumulation of soluble sugars were similar in teosinte and maize (8.0 and 9.0 mg g<sup>-1</sup> of fresh weight (FW), respectively), depending on the phenological stage and the organ of the plant. The distribution of glucose, fructose and saccharose was variable and change during plant growth. Glucose and fructose were the most abundant sugars during the first growth stages, and saccharose increased during the inflorescence stage. The maximum concentration of soluble proteins in teosinte was observed in the leaf at the inflorescence stage (6.0 mg g<sup>-1</sup> FW), while in maize the value was higher (15.7 mg g<sup>-1</sup> FW). The most outstanding proteins expressed in both teosinte and maize were Phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPCase, 104 kDa) and the major subunit of ribulose biphosphate carboxylase (RuBisCo, 55 kDa). Both proteins are characteristic to maize plants which possess a C4-type metabolism.

**Key words:** *Zea diploperennis*, *Z.mays* L., dry matter, soluble sugars, soluble proteins.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y tecnología (CONACyT) por el apoyo económico brindado con el cual me fue posible realizar esta maestría.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECyT) por el apoyo económico brindado para la conclusión de esta investigación.

Al Colegio de Postgraduados por aceptarme como alumno y permitirme ampliar y mejorar mi preparación académica.

Al Dr. F. Víctor Conde Martínez por la oportunidad y confianza para realizar esta investigación, además de sus atinados comentarios.

Al Dr. José Alberto Escalante estrada por su apoyo, ayuda y asesoría durante el presente estudio y mi estancia en el COLPOS.

Al M.C. Antonio García por asesorar este proyecto, por los comentarios y sugerencias para la realización de esta investigación.

Al Dr. José Molina Galán por su asesoría en el presente estudio.

Al Dr. Ebandro Uscanga-Mortera por los acerados comentarios para la realización de esta investigación.

A todos quienes fueron mis profesores en el COLPOS y todos aquellos que intervinieron en mi formación como Maestro en Ciencias.

Al Sr. Juan Zaragoza Zarco quien me apoyó en la parte práctica de esta investigación.

*DEDICATORIA.*

*A mi madre Tomasa Rojas Victoria, por tu confianza y apoyo incondicional, a ti te dedico este logro obtenido.*

*A toda la familia Rojas Victoria, que con mucha paciencia me han apoyado, son parte de este logro.*

*A mi hermano Abraham por la ayuda brindada durante este tiempo.*

*A todos mis amigos y compañeros del COLPOS con los que pasamos buenos momentos.*

*A todas las personas que me apoyaron para alcanzar esta meta.*

*GRACIAS TOTALES!!!*

## CONTENIDO

	Página
Lista de cuadros.....	viii
Lista de figuras.....	ix
<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>I. REVISION DE LITERATURA.....</b>	<b>2</b>
1.1 Antecedentes.....	2
1.1.1 Generalidades de <i>Zea diploperennis</i> .....	2
1.1.2 Características de <i>Zea diploperennis</i> .....	3
1.1.3 Características morfológicas de teocintle y maíz.....	4
1.2 Índice de área foliar.....	6
1.2.1 Producción de biomasa y acumulación de materia seca.....	7
1.2.2 Relación fuente-demanda.....	10
1.3 Carbohidratos en la planta.....	13
1.4 Proteínas en las plantas.....	16
1.4.1 Proteínas relevantes del crecimiento de la planta.....	18
<b>II. OBJETIVOS E HIPOTESIS.....</b>	<b>23</b>
2.1 Objetivo general.....	23
2.2 Objetivos particulares.....	23
2.3 Hipótesis.....	23
2.4 Justificación.....	24
<b>III. MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>25</b>
3.1 Localización y características del sitio experimental.....	25
3.1.1 Diseño experimental y análisis estadístico.....	25
3.1.2 Variables registradas.....	25
3.2 Variables morfológicas.....	26
3.2.1 Altura de la planta.....	26
3.2.2 Área foliar y materia seca.....	27
3.3 Evaluaciones bioquímicas.....	28
3.3.1 Determinación de carbohidratos solubles.....	28
3.3.2 Cuantificación de glucosa, fructosa y sacarosa.....	28
3.3.3 Extracción de proteínas solubles.....	29

<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>31</b>
4.1 Emergencia y fenología.....	31
4.2 Variable morfológicas.....	31
4.2.1 Altura de la planta.....	31
4.2.2 Área foliar.....	32
4.2.3 Producción de materia seca.....	34
4.3 Contenido de carbohidratos.....	36
4.3.1 Azúcares solubles.....	36
4.3.2 Distribución glucosa, fructosa y sacarosa.....	38
4.4 Cuantificación y caracterización de proteínas.....	42
4.4.1 Cuantificación de proteínas solubles.....	42
4.4.2 Separación de proteínas por electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizante (SDS).....	44
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>VI. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>50</b>



## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.	Área foliar por planta producida en las cuatro etapas fenológicas en teocintle y maíz V-107.....	33
Cuadro 2.	Producción de materia seca total ( $\text{g pl}^{-1}$ ) de teocintle y maíz V-107 en cuatro etapas fenológicas.....	35
Cuadro 3.	Contenido de azúcares solubles en diferentes órganos de teocintle y maíz V-107 en cuatro etapas fenológicas.....	37
Cuadro 4.	Contenido de proteína soluble en diferentes órganos de teocintle y maíz V-107 en cuatro etapas fenológicas.....	43

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	<i>Zea diploperennis</i> (Iltis, Doebley y Guzmán) Sánchez <i>et al.</i> (1991).....	4
Figura 2.	Dinámica del crecimiento en altura de teocinte y maíz V-107 desde los seis hasta los 90 días después de la emergencia. Las etapas fenológicas son las siguientes: Vegetativa: 25 dde; Vegetativa- Avanzada: 50 dde; Prefloración: 75 dde; Inflorescencia: 90 dde.....	32
Figura 3.	Identificación y distribución de glucosa, fructosa y sacarosa en teocinte y maíz V-107, en cuatro etapas fenológicas (vegetativa, 25; vegetativa avanzada, 50; prefloración, 75; inflorescencia, 90 dde).....	39
Figura 4.	Separación de proteínas por electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS) de lámina foliar de teocinte y maíz V-107, en cuatro etapas fenológicas.....	44
Figura 5.	Separación de proteínas por electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS) de tallo de teocinte y maíz V-107, en cuatro etapas fenológicas.....	48

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la pérdida de la diversidad genética en las especies vegetales ha tomado seria importancia, considerándose que este proceso probablemente continúe a mayor velocidad en el futuro, de tal manera que los esfuerzos que se realicen en diferentes áreas de la ciencia estarán enfocados en coleccionar, preservar y explotar de manera racional las diferentes especies vegetales.

El teocintle está considerado como un pariente del maíz cultivado (*Zea mays* L. spp. *mays*) y en general, existen argumentos que concluyen que el maíz se originó del teocintle. Los cambios en la composición genética del teocintle demuestran características anatómicas y fisiológicas distintas a las del maíz común como son: la forma de las mazorcas, la dureza del grano, la morfología de las semillas, así como la flexibilidad del teocintle para adaptarse a diferentes condiciones adversas del ambiente y la resistencia al ataque de patógenos, tanto de la raíz como de la parte aérea.

El teocintle perenne (*Zea diploperennis* Iltis, Doebley y Guzmán) endémico de la Sierra de Manantlán en el sur de Jalisco, guarda relación genética con el *Zea mays*. El teocintle, *Z. diploperennis*, por sus características ecológicas, morfológicas y capacidad de adaptación a distintos ambientes, se considera una especie con cierto valor forrajero en las regiones de donde es originario, particularmente en las regiones donde las precipitaciones son escasas. Adicionalmente, posee un gran potencial como fuente de germoplasma y se puede entrecruzar en forma libre con el maíz para producir híbridos fértiles, y se considera tolerante a siete de nueve enfermedades producidas por virus, hongos y bacterias (espiroplasmales) que atacan al maíz. Sin embargo, existe literatura limitada en aspectos agronómicos, fisiológicos y bioquímicos de dicha especie. Por lo que en la presente investigación se evaluaron los caracteres siguientes: la producción de biomasa, la determinación de carbohidratos y caracterización de proteínas presentes en los diferentes órganos de teocintle y en sus distintas etapas fenológicas.

## I. REVISIÓN DE LITERTURA

### 1.1 Antecedentes

#### 1.1.1 Generalidades de *Zea diploperennis*

En general, las evidencias indican que el maíz cultivado *Zea mays* L. spp. *mays* se originó del teocintle y *Zea diploperennis* Iltis, Doebley y Guzmán es uno de estos parientes. El teocintle es una gramínea perenne endémica de la región de la Sierra de Manantlán (al suroeste de Jalisco) donde fue originalmente descubierta en 1979. *Zea diploperennis* por sus características ecológicas, morfológicas y amplia capacidad de adaptación se usa en su sitio de origen como un forraje disponible (Doebley, 1990, 1993).

Esta especie de teocintle (*Zea diploperennis*) se puede considerar como un cultivo forrajero alternativo, con potencial de producción silvestre en las regiones de temporal y que a diferencia del teocintle *Zea perennis.*, *Z. diploperennis* ha mostrado una mayor posibilidad de producción de área foliar y con un mejor crecimiento y adaptación a las regiones que tienen cierta similitud a la zona de origen, por lo que este cultivo puede extenderse a otras regiones diferentes al de su origen (Jiménez, 1996).

*Z. diploperennis* guarda una estrecha relación genética con *Zea mays* L. ssp. *mays*, lo que representa un reservorio genético disponible para el hombre. En la actividad agrícola esta especie como otros congéneres del maíz, se “toleran” en las áreas de cultivo por su valor forrajero y como fuente de germoplasma en programas de mejoramiento (Iltis *et al.*, 1979; Jiménez, 1991; Engrande, 2003).

*Zea diploperennis* es una especie que no se ha aprovechado como recurso forrajero, a pesar de que muestra considerables ventajas con respecto a otras especies de maíces, sin embargo, son escasos los trabajos que proporcionan información suficiente de la composición química de la planta, estos análisis se limitan al contenido de proteína total y carbohidratos, los cuales son algunos parámetros para determinar la calidad forrajera de una especie.

### 1.1.2 Características de *Zea diploperennis*

*Z. diploperennis* es una planta herbácea, perenne, rizomatosa, monoica, con crecimiento clonal en “falange” (Clegg, 1978), heliófila por lo que le favorecen las áreas abiertas, toda la planta en sí se comporta como iterópara (Sánchez-Velásquez, 1991; Sánchez-Velásquez *et al.*, 1992). De los rizomas brotan numerosos vástagos los cuales crecen, se reproducen y mueren en siete meses (Jiménez, 1991).

Esta especie prefiere hábitats paratrópicos y se incluye en el gremio de las arvenses en el sistema tradicional (roza-tumba-quema) del cultivo del maíz (Sánchez y Ordaz, 1987). Este teocintle posee un alto potencial como fuente de germoplasma en programas de mejoramiento del maíz, e inclusive se puede entrecruzar en forma libre con el maíz, para producir híbridos fértiles (Iltis *et al.*, 1979; Pohl y Albertsen, 1981). Además, es una especie tolerante a siete de nueve plagas compuestas por virus, hongos y bacterias (espiroplasmales) que atacan al maíz (Nault *et al.*, 1982; Nault y Findley, 1982).

Benz *et al.* (1990), realizaron un estudio para conocer las características físicas o ecológicas de las poblaciones existentes de *Z. diploperennis*, así como algunos aspectos de la vegetación asociada en cada sitio, estos autores concluyeron que esta especie se asocia al cultivo del maíz y que su adaptación depende del mantenimiento del sistema tradicional del cultivo del maíz. Los mismos autores mencionan que *Z. diploperennis* es una planta con metabolismo C4, lo que le confiere una ventaja adaptativa y competitiva en términos de eficiencia fotosintética y bajo condiciones de alta luminosidad, elevadas temperaturas, estrés por baja disponibilidad de agua y tal vez sea capaz de tener mayor cantidad de reservas de carbohidratos que otras gramíneas.



Figura 1. *Zea diploperennis* (Iltis, Doebley y Guzmán) Sánchez *et al.* (1991)

### 1.1.3 Características morfológicas de teocintle y maíz

El teocintle anual y el maíz son similares en su morfología general, sobre todo en la etapa vegetativa. En la madurez, el teocintle se distingue fácilmente del maíz por sus ramificaciones y las numerosas inflorescencias femeninas pequeñas, características que el maíz no posee, esto se debe a que el teocintle es una planta silvestre (Wilkes, 1977, 1993). Ambas especies presentan flores estaminadas sostenidas en una panícula y flores pistiladas encerradas en un sistema de brácteas, sostenidas en una posición lateral sobre el tallo. La característica más sobresaliente que diferencia el teocintle del maíz es la inflorescencia femenina que es una estructura dística en el teocintle y una estructura polística en el maíz (en la mazorca). El teocintle y el maíz tienen flores femeninas y masculinas en sitios separados. En ambas plantas la inflorescencia masculina se desarrolla en una posición terminal (una panícula), y la femenina en la mazorca (maíz) o en la

espiga (teocintle), que ocupa una posición lateral en la planta. El tamaño promedio del polen en maíz es más grande que el de teocintle (Wilkes, 1977).

La espiga del teocintle posee de seis a quince segmentos de raquis de semilla (comúnmente llamados frutos o carióspsides) distribuidos en dos hileras, y carece de olote. En cambio, en el maíz domesticado la mazorca presenta un olote en el que pueden acomodarse desde 8 hasta 30 hileras de frutos. En el teocintle, la gluma exterior es dura y junto con el raquis forma la cápsula que rodea la semilla, sin embargo, este raquis se rompe con facilidad después de la madurez fisiológica, así la espiga se desintegra y los frutos se dispersan. En el maíz, la gluma es suave, ocupa una posición perpendicular al olote y es más pequeña que el fruto, así los frutos pueden verse cuando la mazorca queda libre del totomoxtle (Cuevas, 2003). En maíz, los frutos ya no pueden dispersarse sin la ayuda del ser humano.

La estación de crecimiento del teocintle es paralela a la del maíz. El ciclo de crecimiento comienza en junio con las lluvias de verano. En agosto o en septiembre el teocintle alcanza la etapa de floración media y puede producir muchas inflorescencias femeninas y masculinas. Debido a que la floración ocurre de abajo hacia arriba y del centro a la periferia entonces el periodo de floración del teocintle puede durar hasta 30 días, intervalo mayor en comparación con el del maíz domesticado (Wilkes, 1977). Por esta razón, la época de floración de la mayoría de las poblaciones de teocintle coincide con la de las variedades de maíz, aunque en algunos sitios se ha observado que la época de maduración del polen se presenta dos semanas más tarde en el teocintle. Las semillas maduras caen al suelo de octubre a diciembre, donde permanecen en latencia hasta el siguiente periodo de lluvias (Wilkes, 1993; Sánchez *et al.*, 1992).

El teocintle es una planta de día corto y no florece durante los días largos de verano en las latitudes norte, a menos que la floración sea inducida al acortar a menos de 10 el número de horas luz. La respuesta al fotoperiodo está directamente relacionada a la latitud de procedencia de cada población. Bajo estas condiciones, la primera población en florecer es la especie de teocintle de Nobogame, seguidas por las poblaciones de la Meseta Central de México, el Valle de México, la del Río Balsas, Jutiapa (sur de Guatemala) y San Antonio Huista (Norte de

Guatemala), la floración de teocintle en condiciones naturales sigue la misma línea norte-sur (Wilkes, 1977; Sánchez, 1992).

El “teocintle” perenne (*Zea diploperennis* Iltis, Doebley, Guzmán) proveniente de la Sierra de Manantlán, al sur de Jalisco jugó un papel importante en la valoración de los recursos naturales de esta región y en la creación del proyecto de Reserva de la Biosfera Sierra de Manantlán (RBSM).

*Z. diploperennis* guarda una estrecha relación genética con *Zea mays* L. ssp. *mays*, lo que presenta un reservorio genético disponible al hombre. En la actualidad esta especie, como otros congéneres del maíz, se “toleran” en los cultivos por su valor forrajero y como fuente de germoplasma en programas de mejoramiento (Iltis *et al.* 1979; Jiménez, 1991; Cuevas, 2003; Engrande, 2003).

## **1.2 Índice de área foliar.**

El área foliar y su distribución dentro de un dosel, son los principales factores que determinan la intercepción total de luz, lo cual afecta la fotosíntesis, la transpiración y la acumulación de materia seca y rendimiento (Yoshida, 1972).

El área foliar es uno de las variables para determinar el potencial fotosintético de la planta. Watson introdujo en 1947 el concepto de Índice de Área Foliar (IAF), definiéndolo como el área de las hojas de una población de plantas por el área de terreno que éstas ocupan. Como ambas áreas están dadas en metros cuadrados, el IAF carece de unidades. No obstante, conviene recordar que se trata del cociente de  $\text{m}^2$  (hojas)/ $\text{m}^2$  (terreno). El índice de área foliar (IAF) se refiere a la superficie de hojas presentes por metro cuadrado de suelo. Un índice de área foliar de 5 por mencionar un ejemplo, significa que por cada metro cuadrado de suelo hay 5  $\text{m}^2$  de hojas. A medida que la planta pueda aumentar su AF, mayor será la tasa de crecimiento (Acosta, 1985, Andrade *et al.*, 1996; Engrande, 2003).



Cuando prácticamente la totalidad de la radiación solar es interceptada, la tasa de crecimiento es máxima y el valor del IAF se denomina IAF óptimo. Puede ocurrir que la superficie de hojas sea excesiva. Por lo tanto el IAF es superior al óptimo y las hojas basales no reciben suficiente luz, en estos casos, es común observar las hojas en senescencia.

El IAF expresa la cantidad de superficie foliar por unidad de área superficial del suelo (Olson y Sander, 1988). Es por lo tanto un índice de la intercepción de radiación por la planta. Yoshida (1972) indica que existe una estrecha relación entre el rendimiento de grano y el IAF en el cultivo de maíz en la etapa de aparición de los estigmas. El IAF puede incrementarse al aumentar el número de plantas y por el incremento en el área foliar por planta (Reyes, 1990).

El índice de área foliar (IAF) de un cultivo varía con su fase de desarrollo (aumenta con la aparición de las hojas y el crecimiento foliar y disminuye con la senescencia de las hojas). La relación que existe entre la radiación interceptada y el IAF es proporcional, es decir a bajos niveles del IAF, un incremento del mismo provoca un aumento importante en la captación de la luz incidente que es interceptada por los cultivos (Donald y Hamblin, 1976). Brown y Blaser (1968) mencionan que el incremento de la producción requiere de un aumento en el uso de la energía solar siempre que otros factores ambientales permanezcan favorables, la fotosíntesis de hojas individuales es máxima cuando sus superficies están perpendiculares a los rayos solares.

Así, un aumento en la IAF proporciona un aumento de producción de la biomasa, pero debido al mayor autosombreado de las hojas, la tasa fotosintética media por unidad de área foliar decrece. A medida que el IAF aumenta, las hojas inferiores son más sombreadas y consecuentemente la tasa fotosintética media de toda el área foliar disminuye.

### **1.2.1 Producción de biomasa y acumulación de materia seca**

El tamaño, eficiencia y duración del aparato fotosintético están relacionados con la producción de la planta, el rendimiento está considerado como resultado final de los procesos fisiológicos, estos se reflejan en la morfología de la planta (Kohashi, 1979), es decir, la eficiencia de los procesos metabólicos logran la máxima producción, translocación y acumulación de fotosintatos

en el grano (Poey, 1978). Por lo tanto, en el desarrollo de la planta existen procesos fisiológicos que determinan la acumulación de fotosintatos y su distribución a órganos de importancia económica y no económica.

Entre el 85 y el 90% del peso seco de la planta es material orgánico derivado de la fotosíntesis (Duncan, 1975). El producto inmediato de este proceso es azúcar y almidón (Ray, 1980). Estas sustancias son producidas en las partes verdes de la planta, especialmente en las hojas, posteriormente son transportados a los órganos que conforman la demanda como son los meristemas, raíces y órganos de reserva en crecimiento (Stoy, 1975; Kohashi, 1979).

Una de las funciones de las hojas de los cultivos es interceptar la mayor parte de la radiación solar incidente, ya que la misma es la fuente de energía utilizada para la producción de la materia seca en las plantas. La interceptación de luz puede ser descrita por la función de dos parámetros: i) su índice de área foliar “m<sup>2</sup> de hojas por m<sup>2</sup> de suelo” y ii) su coeficiente de extinción (Gardner *et al.*, 1985).

La producción de materia seca está estrechamente vinculada con el aprovechamiento de la radiación solar incidente, de la capacidad del área foliar de la planta para interceptarla y la eficiencia del cultivo para transformarla (Escalante y Kohashi, 1993; Andrade *et al.*, 1996). En este sentido, la interceptación de la radiación solar incidente que asegura las máximas tasas de crecimiento del cultivo, se encuentra cuando el índice de área foliar (IAF) aumenta hasta alcanzar el nivel crítico, que permite captar el 95% de la radiación incidente (Gardner *et al.*, 1985; Varlet-Grancher, 1982). La interceptación de radiación por el cultivo es función de la densidad de plantas y del arreglo espacial de estas plantas y sus hojas en el terreno (Willey y Heath, 1969; Escalante y Kohashi, 1993).

La cantidad de materia seca producida por una planta es dependiente de una amplia gama de factores ambientales y genéticos. Dentro de los ambientales se incluyen a la luz, CO<sub>2</sub>, temperatura, humedad disponible y nutrientes, mientras que en los genéticos se incluyen el tipo de fotosíntesis, estructura del dosel y el índice de área foliar (Hopkins, 1999).

Demolon (1972) menciona que el aumento de materia seca mide la eficiencia de la planta; la producción de materia seca aumenta conforme la planta crece, ésta permanece constante un tiempo y después disminuye, el poder de asimilación de la planta se incrementa a medida que sus órganos se desarrollan y la ganancia absoluta de peso es proporcional a la superficie foliar. Acosta y Kohashi (1988) indican que el cultivo de maíz en sistemas de unicultivo y asociado con frijol alcanzan su máximo peso de materia seca a los 105 y 125 días después de la siembra, y también señalan que se presenta una disminución en el peso seco de la planta durante su etapa de llenado de grano.

La acumulación de materia seca en diferentes órganos de la planta de maíz durante su ciclo biológico fue estudiada por Tanaka y Yamaguchi (1972). Estos autores indican que en la fase vegetativa inicial la producción de materia seca es lenta, y al terminar esa etapa inicia el aumento del peso de las hojas, del tallo y del conjunto raquis y espigas. En ese orden, el incremento continúa hasta dos semanas después de la emergencia de los estigmas, para la fase inicial del llenado activo del grano surge un aumento rápido en el peso de los granos que a la vez se abate en hojas, tallo, espigas y raquis, los autores mencionan que quizás en esta última fase existe una traslocación de sustancias desde los órganos vegetativos hasta los granos.

Por otra parte, el rendimiento de materia seca total y el rendimiento de grano son proporcionales al peso de las hojas de la planta (Ochoa, 1995). De la misma manera, el rendimiento de grano depende principalmente de la actividad fotosintética de los órganos de la planta que permanecen verdes después de la antesis (Vargas, 2001), la longevidad de las hojas está determinada por la disponibilidad de nutrimentos particularmente del nitrógeno (Ochoa, 1995).

Para Sinclair (1990), la acumulación de carbono y biomasa de un cultivo dependen finalmente de la intercepción de la radiación solar por el dosel de la hoja y de la actividad fotosintética de las hojas individuales. Por lo tanto, el rendimiento del cultivo dependerá de la actividad del área foliar.

### 1.2.2 Relación fuente-demanda

Los términos fuente y demanda se usan para señalar la dirección del flujo de fotosintetizados entre ciertos órganos y depende de la fase de desarrollo de la planta. En general, la fuente corresponde a los órganos de suministro y la demanda a los órganos de recepción (Acosta, 1985; Escalante y Kohashi, 1993). Por ejemplo, las células de un meristemo apical no son fotosintéticamente activas, por lo que deben consumir los carbohidratos producidos en otras partes de la planta. También es posible definir a la fuente y a la demanda desde el punto de vista metabólico, ya que en la fuente se producen los asimilados por el proceso de fotosíntesis o por el catabolismo y removilización de materiales almacenados en procesos respiratorios de crecimiento (Wilson, 1972). De esta manera se tienen órganos que producen fotoasimilados y órganos que los consumen, algunos pueden ser demandados en etapas tempranas del desarrollo y se incluyen todas las partes del crecimiento (Charles-Edwards *et al.*, 1986).

Los compuestos carbonados producto de la fotosíntesis o asimilados son exportados de las células foliares en un 90% en forma de sacarosa (Prioul, 1984; Bidwel, 1979). La exportación de carbohidratos solubles desde el cloroplasto, donde se producen primeramente, es estrictamente controlada por la concentración de fosforo inorgánico en el citoplasma y el cargado del floema está regulado por traslocadores específicos disparados por bombas metabólicas. Este tipo de transporte activo concentra asimilados en el interior de los tubos cribosos y en consecuencia, provoca un movimiento de agua hacia su interior que induce el flujo en masa de los órganos de demanda, el potasio se considera un elemento esencial en este proceso (Prioul, 1984).

En el cloroplasto de una célula fotosintética, como producto estable de la fotosíntesis, se generan triosas-fosfatos (triosas-P); estas triosas-P pueden seguir la ruta de síntesis de almidón o exportarse hacia el citoplasma al intercambiarse por fósforo inorgánico (Pi). Las triosas-P en el citoplasma continúan el proceso, reguladas por enzimas de formación de sacarosa; estas enzimas importantes son fructosa-fosfatasa, sacarosa-fosfato-sintetasa y sacarosa-fosfato-fosfatasa. La sacarosa formada puede ser entonces translocada o almacenada temporalmente en vacuolas (Lucas y Madore, 1988) y su regulación estará dada por la etapa fenológica particular y el ambiente, principalmente (Daie, 1985).

Para la carga del floema, la sacarosa sale primero del citoplasma hacia el apoplasto, mediante un proceso difusivo y al pasar del apoplasto hacia las células del floema atraviesa la membrana de la célula, ayudada por el transportador tipo simporte o co-transporte sacarosa-proton (Prioul, 1984), que requiere energía metabólica en este proceso, la cual se obtiene al funcionar la enzima  $H^+$ -ATPasa (o bomba de protones) que favorece la salida de protones ( $H^+$ ) hacia el apoplasto.

Por otra parte, el rendimiento de grano es afectado por procesos complejos, pero la disponibilidad de asimilados de la fuente y la demanda para la acumulación de dichos asimilados, junto con la traslocación de los mismos, son los factores que se reconocen de mayor importancia en la determinación del rendimiento final de los cereales. Daie (1985) señala que la partición química de los carbohidratos está dada en función de la habilidad competitiva de varios centros de crecimiento, por lo que la partición debe ser analizada en el contexto del crecimiento y diferenciación. También Saftner y Wyse (1984) postulan que la partición de la demanda (fuerza de la demanda) en la translocación de carbohidratos es de gran importancia.

En muchos estudios se considera a la producción de asimilados como una parte del proceso de fotosíntesis, y como un factor para la obtención de alto rendimiento de la planta. Las técnicas actuales de medición de fotosíntesis (basadas en la tasa de intercambio de  $CO_2$ ) consideran que todas las moléculas de  $CO_2$  asimiladas son convertidas a glucosa, y este monosacárido está relacionado con la acumulación de materia seca. Pero en las hojas activas, simultáneamente ocurren otros procesos que consumen energía, tales como la producción de  $NO_3^-$  y la subsecuente formación de aminoácidos, así como la distribución de sustancias del floema.

En los cultivos de grano como el maíz, se ha tratado de entender las relaciones entre la fuente de asimilados y la demanda, constituida por las mazorcas o grano en la mazorca, con el fin de explicar si el rendimiento de grano es limitado por el suministro de fotosintetizados, o bien por la capacidad del grano para almacenar los asimilados traslocados (Tollenaar, 1977; Tollenaar y Daynard, 1978; Hay y Walker, 1989).

Se han realizado diversos estudios para obtener información sobre la fuente y la demanda como posibles limitantes del rendimiento. Al respecto, Tanaka y Yamaguchi (1972) presentan resultados de estudios con maíz en donde se aplicaron tratamientos de defoliación o eliminación de mazorca durante la exposición de los estigmas, evaluando la biomasa producida al finalizar el ciclo del cultivo. Al eliminar todas las hojas de la planta no se obtuvo rendimiento y el peso del tallo disminuyó, la eliminación de las hojas situadas arriba de la mazorca ocasionó una disminución drástica en el peso del grano, pero al eliminar las hojas de debajo de la mazorca el rendimiento prácticamente no se abatió. Por otra parte, al eliminar todas las mazorcas se produjo una disminución en el peso total de la plantas a la vez, se observó un aumento de azúcares en laminas foliares y tallo, pero hubo senescencia temprana de las hojas. Priul y Schwebel-Dugué (1992), observaron senescencia acelerada, a la cual Wolfe *et al.*, (1988) consideraron altamente correlacionada con la reducción de la actividad fotosintética y el bajo contenido de nitrógeno en las hojas durante la senescencia. Tanaka y Yamaguchi (1972) señalaron que cuando se quitó la primera mazorca se provocó una disminución en el peso total de la planta, un incremento en el peso de las hojas más el tallo y un ligero incremento en el peso de la segunda mazorca, al eliminar la segunda mazorca, no hubo un cambio significativo. Con base a estos resultados, los autores señalan la importancia de la fuente y las hojas como las principales aportadoras de fotosintetizados a la mazorca.

Otros estudios evidencian que la tasa de fotosíntesis está relacionada con la demanda de asimilados. Hay y Walker (1989), mencionan que la fotosíntesis es controlada por la concentración de asimilados en la hoja, si la fuerza de demanda es baja, en la hoja se acumulan azúcares y almidón reduciendo su actividad, como si ya hubieran sido satisfechas las necesidades del órgano demandante. Así, la remoción de frutos en plantas de jitomate o espigas en cereales reduce la fotosíntesis neta, en forma inversa cuando la demanda por asimilados se incrementa se ha evidenciado el incremento en las tasas fotosintéticas. Los mismos autores señalan que la defoliación parcial de hojas remanentes proporcionan los requerimientos de asimilados necesarios para todas las demandas, asimismo la remoción de inflorescencias en trigo provocó que la tasa de fotosíntesis neta de la hoja bandera disminuyera en un 40%, mientras que la actividad subsecuente de las hojas inferiores fue la única fuente de asimilados para los órganos remanentes (Hay y Walker, 1989).

Tollenaar (1977) menciona que el suministro de asimilados a la mazorca depende de la tasa de crecimiento del cultivo, de la disponibilidad de reservas de asimilados en otras partes de la planta, de la existencia de competencia por otras demandas, del sitio de fotosíntesis, de la vía de traslocación a la mazorca y del tamaño de la demanda. Con respecto a la actividad de la fuente en la síntesis de asimilados, ésta depende del tamaño (IAF) y la eficiencia del sistema fotosintético, así como de su duración, en maíz el IAF máximo se alcanza un poco tiempo después de la floración y varía en función de la densidad de plantas, del genotipo y del ambiente. Del mismo modo, la tasa de asimilación neta puede variar dependiendo de la capacidad de fotosíntesis de las hojas, así como de la radiación incidente en el dosel. Loomis y Williams (1969) mostraron que con un IAF mayor a 3, el maíz con una disposición de hojas verticales alcanzó mayores tasas de crecimiento del cultivo que plantas de maíz con hojas horizontales, lo cual fue debido a una mejor distribución de la radiación en el dosel.

Loaiza (1986) menciona que para una máxima producción de materia seca, el área foliar deberá ser suficiente para ofrecer la máxima capacidad de intercepción de la luz, ya que el área foliar excesiva puede causar sombreado en las hojas inferiores haciendo que los carbohidratos sean utilizados a una mayor velocidad de la que son sintetizados.

### **1.3 Carbohidratos en las plantas**

Los fotosintatos que se producen principalmente en las hojas y otros órganos específicamente adaptados, particularmente en los tallos verdes, brácteas florales y parte de los frutos, se van transformando en distintas sustancias como los carbohidratos. Las plantas bianuales y perennes normalmente producen y almacenan cantidades importantes de carbono reducido, que sirve como fuente de energía para el crecimiento del año siguiente (Bidwell, 1979).

La acumulación de carbohidratos en las plantas tienen la función de proveer monosacáridos que son utilizados durante el crecimiento y desarrollo. La sacarosa es el principal producto de la fijación de carbono durante la reacción fotosintética y es la forma en la cual la mayor parte del carbón orgánico se transporta desde el tejido fuente fotosintética a órganos de almacenamiento no fotosintéticos. Después de la sacarosa, el almidón es el principal carbohidrato de reserva en

las plantas. Su sitio de acumulación está localizado en los plástidos, en los cloroplastos de las hojas y los amiloplastos de tejidos no fotosintéticos (Pajic *et al.* 1992; Avigad y Dey, 1997).

En las plantas, los carbohidratos están clasificados en estructurales y no estructurales. Los primeros forman parte de la pared celular y están involucrados en la estructura rígida de la planta (entre estos se encuentran la celulosa, hemicelulosa, pectina); éstos son causantes de la fibrosidad de las plantas, no están disponibles para el metabolismo energético de la planta, son insolubles en agua. Los no estructurales comúnmente llamados carbohidratos solubles en agua o de reserva se almacenan en órganos vegetativos como raíces, rizomas, estolones y partes inferiores del tallo.

En diferentes plantas se han encontrado que los carbohidratos no estructurales totales (CNET) están conformados principalmente por los monosacáridos (glucosa y fructosa), disacáridos (sacarosa) y polisacáridos (almidón) (Smith, 1972). Sin embargo, su concentración y distribución varían entre y dentro de las especies, White (1973) reportó que en gramíneas de origen templado predomina la sacarosa y fructosa, mientras que en gramíneas tropicales predominan sacarosa y almidón.

El almacenamiento de los carbohidratos no estructurales totales (solubles) pueden ocurrir en toda la planta; raíz, rizomas, bulbos, estolones y base de los tallos, es variable su estimación de la energía disponible para el metabolismo y/o traslocación a otras partes de la planta (Baker y Garwood, 1961).

Los CNET proporcionan la energía para el rebrote de las especies forrajeras perennes o anuales y que pueden ser cosechadas varias veces en una misma temporada. Además, ayudan a sobrevivir a las plantas forrajeras durante períodos de sequía, de inundación, de altas o de bajas temperaturas, y también proporcionan energía para el crecimiento cuando las condiciones ambientales son nuevamente favorables (Alviso, 1982). McIlroy (1973) menciona que existe un patrón cíclico de crecimiento y madurez, donde las plantas atraviesan períodos de uso constante de carbohidratos y otros períodos de almacenamiento de los mismos. Por otra parte, las condiciones ambientales



pueden determinar la rapidez de los cambios hacia la madurez de la planta y con ello la duración de las etapas de acumulación de carbohidratos (Alviso, 1982).

Donaghy y Fulkerson (1998) mencionan que la asignación de reservas de carbohidratos solubles para las distintas partes de la planta después de una defoliación, la prioridad es para la formación de hojas y tallos, y por último para la formación de raíz, para asegurar la sobrevivencia de la misma, de otro modo la planta pierde rápidamente sus reservas de carbohidratos a través de una respiración continua y llega a secarse. Los CNET son una fuente potencial de energía almacenada que se emplea en condiciones adversas del medio, cuando la demanda por energía para el metabolismo de la planta es mayor que la aportada por la fotosíntesis (Buwai y Trilica, 1977). Los CNET han sido identificados como los principales metabolitos empleados para la formación de rebrote en tallos defoliados (Smith, 1972).

De acuerdo a Reyes (1990), el maíz es un forraje de alto valor nutritivo dado que es una importante fuente de energía proporcionada por los carbohidratos que contiene. El mismo autor menciona que estos carbohidratos se encuentran distribuidos principalmente en la mazorca, más específicamente en los granos y en menor medida en las hojas. Coincidiendo con lo reportado por Tanaka y Yamaguchi (1972), estos autores analizaron distintas estructuras del maíz en diferentes etapas de crecimiento y señalan que el contenido de azúcares de las hojas fue durante el crecimiento de la planta, pero se empezó a incrementar antes de la emisión de los estigmas. La traslocación de los carbohidratos de los órganos de la planta hacia el llenado de grano, son proporcionados por las partes vegetativas de la planta.

Las reservas orgánicas son el mecanismo que poseen las plantas forrajeras para activar el rebrote, asegurar su persistencia y mantener su producción, las cuales están constituidas principalmente por carbohidratos y compuestos nitrogenados. Las reservas son usadas para el mantenimiento de la planta y para la producción de biomasa aérea y subterránea en períodos de estrés, e incluyen azúcares reductores (glucosa, fructosa), azúcares no reductores (sacarosa), fructosanos y almidones (Holmes, 1982). Los pastos tropicales acumulan almidones y a veces sacarosa y los de zona templada fructosanos y en menor proporción sacarosa (Lucas, 1988; López, 2007).

## 1.4 Proteína en la planta

Las proteínas son las moléculas formadas por una gran cantidad de cadenas de aminoácidos, generalmente se disuelven en agua o en soluciones salinas diluidas. Son las moléculas orgánicas más abundantes en las células, constituyendo el 50 por ciento o más de su peso seco. Se encuentran en todas las partes de cada célula, y son fundamentales en todos los aspectos de la estructura y funciones celulares. Existen muchas clases de proteínas diferentes, cada una de ellas especializada en una función biológica diferente (Coombs *et al.*, 1973; Jensen y Salisbury, 1988; Lehninger, *et.al.*, 1995).

Las proteínas presentan diferentes y elevados pesos moleculares, contienen al igual que las grasas y los carbohidratos, oxígeno, carbono e hidrógeno, pero todas ellas tienen además nitrógeno y muchas de ellas azufre (McDonald *et al.*, 1993). Dentro de las funciones que desempeñan las proteínas se clasifican en dos; activas y pasivas. Las activas: catalizadores (enzimas), reguladoras (enzimas alostéricos, hormonas), de transporte (hemoglobina), almacenadora (mioglobina), nutrición (ovoalbúmina), de defensa (inmunoglobulina) y anticuerpos, contráctil (miosina, actinas) visual (rodopsina, iodopsina), energéticas (proteínas del fotosistema II). Las pasivas: estructural (colágeno, queratina).

Nichols *et al.* (1989) reportan que al incrementar la fertilización nitrogenada (0, 36, 72 y 108 kg /ha) en el heno de pastos se produce una disminución en el contenido de proteína cruda (9.1, 8.2, 8.2, y 8.1 % respectivamente) lo cual puede deberse al estímulo de crecimiento causado por la aplicación del nitrógeno y la consecuente reducción de la relación hoja-tallo debido al crecimiento del tallo en las parcelas fertilizadas. Esto reduce el contenido total de proteína cruda ya que los tallos contienen menor contenido de proteínas que las hojas.

Las proteínas de las hojas verdes constituyen la fuente proteica más abundante del mundo. Estas son sintetizadas con una utilización directa y eficiente de la energía solar. Es por ello, que los conocedores de las actuales mermas de energía, enfatizan la necesidad de la máxima utilización de las proteínas de las hojas (Kung *et al.*, 1980). Los estudios sobre proteínas de diferentes partes

de la planta son más recientes, con especial interés en las que se presentan en hojas, en donde se realiza la fotosíntesis y también una gran cantidad de procesos fotosintéticos.

Las proteínas de las hojas se pueden agrupar en tres clases, según su localización en las células de los tejidos foliares. Los cloroplastos contienen aproximadamente de un tercio a un medio del total de las proteínas de la hoja, formando un complejo que puede denominarse proteína cloroplástica, la proteína citoplasmática soluble de la célula constituye la mayor parte de las proteínas y la proteína nuclear de los cromosomas, así como de otros órganos nucleares que existen en cantidades menores (Sinclair, 1989; Vargas, 2004).

Por otra parte, aun cuando la cantidad total de proteínas de una hoja permanezca constante durante largo tiempo, esto no quiere decir que las diferentes moléculas proteicas queden inalteradas en la hoja, estas presentan continua degradación junto con la síntesis de nuevas proteínas. Por otro lado, las hojas al comienzo de su crecimiento (jóvenes) toman sustancias de reserva de sus similares más viejas, y solo cuando alcanzan una parte considerable de su tamaño definitivo comienzan a enviar una parte de sus fotoasimilados, y al completar su crecimiento (inicio de maduración) la emisión de compuestos es cedido a las hojas más jóvenes o es acumulado en los tejidos de reserva del tallo o raíz (Sector, 1982; Fortes *et al.*, 2004).

Cuando se alcanza la fase adulta la nutrición de la planta se estratifica, las hojas de la parte superior suministran a las hojas más jóvenes y a los ápices meristemáticos del tallo, las hojas de la parte inferior lo envían al sistema radical y órganos de reserva y las hojas de la zona media de la planta abastecen a los tejidos adyacentes del tallo y en menor cantidad a los ápices foliares y radicales (Flengsrud y Kopro, 1988; Del pozo, 2002).

La degradación de proteínas es un evento muy relacionado con el envejecimiento foliar; la concentración de proteína disminuye a medida que progresa la senescencia (Thomas y Stoddart, 1980; De Lucca y Trippi, 1982a). Drevdahl y Thimann, (1997) indicaron que la disminución rápida del contenido de proteína en plántulas de avena estaba asociada con los cambios en la actividad de proteasas y con variaciones en factores ambientales tales como la relación luz-oscuridad (De Lucca y Trippi, 1982b).

### 1.4.1 Proteínas relevantes del crecimiento de la planta

Durante el estadio de plántula el crecimiento es dependiente de las reservas, las proteínas de almacenaje se utilizan como sustratos respiratorios (a través de la desaminación oxidativa). A medida que la planta va creciendo, van apareciendo y desarrollándose diferentes órganos, los cuales demandan nutrientes específicos (Andrade *et al.*, 1996; Cruz y Huguet, 1995, Raya y Aguirre, 2008). Las tasas de crecimiento relativo de distintas especies pueden estar correlacionadas con las concentraciones de algunas proteínas de la hoja (Poorter y Bergkotte 1992). El valor nutritivo de una planta disminuye con la edad (Muslera y Ratera, 1984), siendo éste siempre el factor más importante (Church, 1984; Hughes *et al.*, 1975; McDonald *et al.*, 1993).

En el maíz el proceso fotosintético se lleva a cabo por la ruta de Hatch y Slack (C4), donde intervienen principalmente dos enzimas de carboxilación: la fosfoenol piruvato carboxilasa (PEPcase) y la Ribulosa, 1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (Rubisco), esta última inicia el metabolismo fotosintético del carbono, determinando la tasa a la cual el CO<sub>2</sub> será incorporado en azúcar fosfato a través de la carboxilación de Ribulosa 1,5-bisfosfato (López *et al.*, 2007; Raya y Aguirre, 2008).

La Rubisco es una enzima bifuncional, con interacciones competitivas entre CO<sub>2</sub> como un sustrato para la Ribulosa 1,5-bisfosfato (RuBP) carboxilasa y O<sub>2</sub> como un sustrato para RuBP oxigenasa. La carboxilación de RuBP conduce al proceso fotosintético, mientras que la oxigenación dirige a la fotorrespiración (Morales *et al.*, 1999).

El estudio del proceso fotosintético ha permitido conocer los mecanismos fisiológicos y bioquímicos que se llevan a cabo para que los compuestos inorgánicos se transformen en materia orgánica, por la acción de la energía radiante. Esto hace posible efectuar manejos adecuados en los cultivos, en el objeto de incrementar la producción en plantas de interés económico (Morales, 1996).

La regulación de la asimilación neta de carbono en el proceso fotosintético es compleja y está acompañada de diversos factores, por ejemplo: las relaciones hídricas en la planta, la concentración relativa de metabolitos que intervienen en el ciclo de Calvin en el cloroplasto, la intensidad luminosa, así como el papel que desempeña la proteína Rubisco activasa, como mediador en la regulación de la actividad fotosintética de la Rubisco (Morales, 1999; Martínez, 2007).

La Rubisco, se considera la proteína vegetal más abundante, está presente en todos los organismos fotosintéticos, y se localiza en el estroma de los cloroplastos. Por ser una enzima bifuncional puede catalizar tanto la primera reacción de la fijación fotosintética del CO<sub>2</sub> como de la fijación de O<sub>2</sub>, expresados a través de los procesos de fotosíntesis y fotorrespiración (Lorimer y Andrews, 1981). En los cloroplastos de las plantas superiores, la Rubisco puede alcanzar valores superiores al 65% del total de proteína soluble (Foyer, 1987).

En las plantas con fotosíntesis de tipo C<sub>3</sub>, la Rubisco se localiza en el estroma del cloroplasto, mientras que en las C<sub>4</sub> está registrada a los cloroplastos del haz vascular (Coombs, *et al.*, 1988). En las plantas C<sub>4</sub>, la concentración de CO<sub>2</sub> en las células del haz vascular es más alta que en las células del mesófilo, lo que limita que el O<sub>2</sub> pueda competir con el CO<sub>2</sub> por el sitio activo de la enzima, dejándolo disponible para que ocurra la reacción de carboxilación (Lorimer y Andrews, 1981).

La Rubisco cataliza el primer paso en la fijación del CO<sub>2</sub>. Su activación requiere de un pH para el transporte de H<sup>+</sup> del estroma hacia los canales tilacoidales, también requiere de la enzima Rubisco activasa, ATP y Mg<sup>2+</sup> para maximizar la carbamilación de moléculas de CO<sub>2</sub>. La Rubisco activasa funciona en luz, porque probablemente así esté disponible el ATP proveniente de la fosforilación, pero en oscuridad la Rubisco se descarbamilada de manera espontánea y pierde su función (Spreitzer y Salvucci, 2002).

Martínez Barajas (1994) menciona que en plantas adultas de maíz de dos poblaciones genéticamente relacionadas, y con diferencias en rendimiento de grano y diferente ciclo de selección, que la actividad de Rubisco se incrementa, sin cambios notables en la concentración de la misma enzima, y los cambios en la actividad tienen una correlación positiva con las variaciones en la concentración de la Rubisco activasa.

Loza-Tavera (1992), consigna que en poblaciones de maíz que han sido mejoradas genéticamente, la actividad de la Rubisco aumenta durante el período de llenado de grano, hasta un máximo a la mitad del mismo y disminuyendo al final, mientras que la proteína Rubisco disminuye a través de todo el periodo, a pesar que la proteína soluble total se mantiene sin variación.

Otra de las enzimas relevantes de las plantas es la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPCasa), la cual está ampliamente distribuida en células vegetales, bacterias fotosintéticas y no fotosintéticas (Matsumura *et al.*, 1999), cianobacterias y en algas verdes (Chollet *et al.* 1996, O'leary, 1982). Participa en procesos de la ruta fotosintética, en la fijación del CO<sub>2</sub> atmosférico en plantas C4 (Hatch, 1978) y en las plantas con metabolismo ácido crasuláceo (CAM) (Ting, 1985), también es la enzima anaplerótica más importante de todos los tejidos vegetales (Latzko 1983; O'leary 1982), que suministra ácidos dicarboxílicos al ciclo de los ácidos tricarboxílicos (Matsumura *et al.* 1999) cuando son utilizados intermediarios para biosíntesis.

La fosfoenolpiruvato carboxilasa, que es la primera enzima que fija el carbono en las plantas C4 tiene una menor discriminación que la Rubisco contra los isótopos <sup>13</sup>C del carbono, por lo que este isótopo se acumula más en las C4 (Cerling *et al.* 1997; Beerling y Berner, 2005).

Las plantas C4 primero hidratan el CO<sub>2</sub> usando anhidrasa carbónica (AC), enseguida lo convierten a un compuesto de cuatro carbonos mediante la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPCasa) y lo descarboxilan mediante el uso de una a tres enzimas: el enzima málico dependiente de NADP (EM-NADP), o dependiente de NAD (EM-NAD) o fosfoenolpiruvato carboxicinasa (PEP Carboxicinasa). La caña de azúcar, el maíz y el sorgo usan EM-NADP pero

lo más común es encontrar combinaciones como EM-NAD-/EM-NADP y EM-NADP/PEP Carboxicinas; el uso de una sola enzima descarboxilante no es común.

Para poder llevar a cabo este tipo de fotosíntesis las plantas han desarrollado la anatomía tipo Kranz o de corona, en la que ocurre la separación espacial entre la fijación del carbono por parte de la PEPCasa y su reutilización por parte de la Rubisco. La fijación del CO<sub>2</sub> ocurre primero en las células del mesófilo mediante la PEPCasa, (que no tiene actividad de oxigenasa) y produce oxaloacetato que es reducido a malato y transportado a las células de la vaina del haz, donde es descarboxilado por la ME-NAPD. El CO<sub>2</sub> así liberado es usado por la Rubisco para fijarlo mediante el ciclo de Calvin o C<sub>3</sub> y formar carbohidratos. La concentración de CO<sub>2</sub> en las células de la vaina puede ser tres o cuatro veces mayor que la atmosférica y así se evita en buena medida la actividad de oxigenasa de la Rubisco, y por lo tanto, la fotorrespiración (Raya y Aguirre, 2008).

Algunas de las funciones de PEPC como enzima anaplerótica son las siguientes: la asimilación de nitrógeno en nódulos aumenta por actividad de PEPC, cuando se requiere de esqueletos carbonados para la asimilación inicial de N, estos esqueletos se derivan del ciclo de los ácidos tricarboxílicos como α-cetoglutarato y oxaloacetato (Schubert, 1986). Se ha determinado que hasta el 25% del carbono requerido para la actividad de nitrogenasa y la asimilación de nitrógeno podría ser aportado por PEPC (King *et al.*, 1986).

La PEPCasa puede comprender hasta el 2% del total de la proteína soluble del nódulo en especies que transportan amidas (Miller *et al.*, 1989). La PEPCasa participa en tejidos con alta actividad metabólica como el tejido vascular de las semillas en formación, en la maduración y su germinación, y en la maduración de los frutos participa en la regulación del flujo del carbono glucolítico y gluconeogénico. En la maduración del fruto la variación en la concentración de PEP está asociada al inicio de la liberación rápida de CO<sub>2</sub> o respiración climatérica (Beaudry *et al.*, 1989), por lo que puede haber una activación de PEPCasa el inicio al climaterio (Law y Plaxton, 1995). Otras funciones en las que participa la PEPCasa es en que estabiliza el pH en las células guarda de los estomas, mantiene el balance de cargas al acumularse aniones orgánicos, principalmente malato (Tarczynski y Outlaw, 1993). De igual forma regula el pH celular, ya que

la síntesis de malato genera iones  $H^+$  y su degradación produce iones  $OH^-$  (Martinoia y Rentsch, 1994). Participa en el transporte de equivalentes reductores de la mitocondria al citoplasma o del cloroplasto al peroxisoma y contribuye al mantenimiento del balance de cargas en la célula y fluidos de la planta, aumentando la concentración del malato cuando existe un exceso de cationes (Deroche y Carrayol, 1988; Martinoia y Rentsch, 1994).

La PEPCasa es una enzima importante en la productividad de las plantas debido a que permite la asimilación más eficiente de  $CO_2$  atmosférico por las plantas C4 durante la fotosíntesis o cumple funciones de vital importancia en condiciones de estrés osmótico y durante el desarrollo de los vegetales (López *et al*, 2007).

Por lo anterior, en la presente investigación se evaluaron la producción de biomasa, la determinación de carbohidrato solubles y la distribución de glucosa, fructosa y sacarosa, así como la caracterización de proteínas en los diferentes órganos de teocintle y en sus distintas etapas fenológicas. Es importante mencionar que en este trabajo se incluyó una variedad de maíz forrajero (V-107), con el objetivo de tener una referencia para contrastar los resultados del teocintle. Se conoce de antemano que el maíz forrajero en la mayoría de los casos puede ser superior al teocintle, debido a que ha sido sometido a un proceso de selección para potenciar sus características, mientras que el teocintle es una especie silvestre en la cual la presión de selección ha sido menor, pero que tiene un uso forrajero real en sus regiones de origen.



## **II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la producción de biomasa (materia seca), carbohidratos solubles y proteínas en cuatro etapas fenológicas del teocintle *Zea diploperennis*.

### **2.2 OBJETIVOS PARTICULARES**

- Evaluar la producción de biomasa y área foliar en cuatro etapas fenológicas de teocintle y de maíz forrajero
- Determinar los azúcares solubles y proteínas en cuatro etapas fenológicas de teocintle y maíz forrajero

### **2.3 HIPÓTESIS**

La producción total de biomasa (materia seca) está determinada por la etapa fenológica de la planta, y puede estar relacionada con la concentración de azúcares y expresión de proteínas de la planta.

## 2.4 JUSTIFICACIÓN

La mayoría de los trabajos realizados con teocintle están enfocados en el conocimiento del papel que ha jugado en la evolución y el mejoramiento del maíz cultivado, dejando a un lado los estudios básicos sobre la fisiología y la bioquímica de la planta.

Se ha consignado que el teocintle es una planta que no ha sido aprovechada como recurso forrajero, a pesar de que ha mostrado considerables ventajas sobre otras gramíneas. Por ejemplo, puede cultivarse en diferentes climas (incluso en ambientes secos) y su rendimiento depende de éste. La utilización del teocintle, *Zea diploperennis*, puede ser una fuente viable de forraje para la producción de ganado, por su potencial forrajero en condiciones naturales e intensivas de manejo.

El teocintle por sus amplias características ecológicas, morfológicas y capacidad de adaptación a distintos ambientes, se considera una especie con cierto valor forrajero en las regiones de donde es originario, particularmente donde las precipitaciones son escasas. El generar conocimiento a nivel fisiológico y bioquímico de esta especie, permitirá ampliar la información de esta planta para poder considerarse como una especie alterna para su uso como forraje.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Localización y características del sitio experimental.**

El presente estudio se realizó en los invernaderos del Colegio de Postgraduados, Montecillo, México (19° 29'N y 98°45' O, 2 250 msnm). Las unidades experimentales fueron macetas de 6 kg de capacidad conteniendo una planta. La humedad del suelo se mantuvo cercana a capacidad de campo.

Las semillas de Teocintle se obtuvieron del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias CUCBA, de la Universidad de Guadalajara. Las semillas de maíz forrajero variedad V-107 se obtuvieron del Programa de Semillas del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. La siembra se realizó el 3 de abril de 2008, el registro de las variables morfológicas se realizaron del 18 de abril al 25 de julio de 2008.

#### **3.1.1 Diseño experimental y análisis estadístico.**

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones. Por muestreo para cada variable se realizó un análisis de varianza (ANOVA), y comparación de medias entre tratamientos mediante la prueba de Tukey. Los datos obtenidos se analizaron con el paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows. Las variables fueron: variables de crecimiento (altura, área foliar y materia seca) y evaluaciones bioquímicas (contenido de azúcares solubles, distribución de glucosa, fructosa y sacarosa, identificación y caracterización de proteínas solubles)

#### **3.1.2 Variables registradas**

Las variables respuestas se dividieron en 1) morfológicas como: altura, área foliar, materia seca y 2) bioquímicas como: contenido de carbohidratos solubles y contenido y caracterización de proteínas solubles.

Para el factor de crecimiento de la planta, se consideraron cuatro etapas fenológicas según la clasificación de Manzano, 2001 y Mimila, 2003: vegetativa (25 días después de la emergencia, dde), vegetativa-avanzada (50 dde), prefloración (70 dde) e inflorescencia (90 dde).

- **Vegetativo.** Se define al inicio de la elongación del tallo, de forma tal que solo se pueda distinguir un solo entrenudo.
- **Vegetativo-avanzado.** Consiste en la presencia de las tres primeras hojas basales totalmente desarrolladas y se diferencian del resto de las hojas superiores por existir de dos a tres entrenudos visibles en el tallo.
- **Prefloración.** Es cuando el tallo, presenta hojas bien diferenciadas en distintos planos verticales, en el ápice del tallo es evidente el proceso de emergencia de una sola hoja.
- **Inflorescencia.** Es cuando el tallo muestra la inflorescencia masculina y femenina, además de esta última muestra la emergencia de los estilos con propiedades estigmáticas.

## 3.2 Variables morfológicas

### 3.2.1 Altura de la planta

La altura de la planta se registró cada semana, a partir de que las plántulas tenían siete días de emergencia, estos datos se registraron durante las 13 semanas que duro el estudio. Se seleccionaron 10 plantas al azar para registrar la altura durante las 13 semanas con 5 repeticiones, las cuales se midieron desde la base hasta el entrenudo de la panícula cuando la planta estaba en floración.

### 3.2.2 Área foliar y materia seca

Durante el desarrollo de las plantas, se determinó el área foliar en cada etapa fenológica (25, 50, 75, 90 dde), por el método indirecto de multiplicar largo x ancho x el factor 0.75 de la lámina foliar de las hojas colectadas (Jiménez y Mendoza, 1981), la longitud (largo) de la lamina foliar se midió con una regla desde la base de la lamina hasta el ápice de la misma. El ancho se tomó de la parte central de la lámina, se registro una hoja por planta.

Para la determinación de materia seca se llevaron a cabo muestreos destructivos al inicio de cada una de las etapas fenológicas arriba mencionadas. Se registró la altura de las plantas en cada etapa fenológica considerando cuatro repeticiones. Las plantas se disectaron en tallo, vaina y lámina foliar, para evitar pérdidas de humedad desde el corte de las plantas hasta el registro del peso seco. Las muestras fueron guardadas en bolsas de polietileno, posteriormente las fueron pesadas en una balanza granataria (electrónica) marca “AND” con capacidad de 3 kg, y cada uno de los órganos de la planta fueron colocadas en bolsas de papel, cada muestra fue sometida a un proceso de secado en una estufa (marca THELCO) de aire forzado a 70°C por un periodo de 72 horas hasta llegar a peso constante. Después del secado las muestras fueron pesadas nuevamente para obtener su peso seco. Para calcular el contenido de materia seca en porcentaje se utilizó el siguiente planteamiento matemático.

$$MS = (PS/PF) \times 100$$

Donde:

MS= Contenido de materia seca en %

PF = Peso fresco de la muestra en gramos

PS = Peso seco de la muestra en gramos

### **3.3 Evaluaciones Bioquímicas**

#### **3.3.1 Determinación de azúcares solubles**

Se tomaron 5 g de cada muestra vegetal (lámina foliar, vaina o tallo) y se colocaron en un matraz de 250 ml, adicionándole 50 ml de etanol al 80% y se fijaron las muestras por 10 minutos en ebullición, posteriormente se maceraron y se filtraron. Los extractos filtrados se colocaron en un sistema Soxhlet, junto con los residuos del macerado envueltos en papel filtro (en forma de cartucho), para la extracción de azúcares por reflujo continuo durante 2 horas, posteriormente se concentraron las muestras hasta obtener un volumen final de 10 mL. Se procedió a la cuantificación de azúcares solubles.

Se cuantificaron los azúcares solubles por el método de Nelson (1944). Se tomó 1 mL de muestra (1:10 con agua destilada) en tubo de ensaye adicionándole 1 mL de reactivo C de Nelson (Reactivo A: 12.5 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  anhidro (ó 14.3 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), 12.3 g de tartrato de potasio, 10 g de  $\text{NaHCO}_3$  y 100 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro en 350 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  en 500 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ .) + Reactivo B: 7.5 g de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en 50 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  y se adicionó una gota de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), posteriormente las muestras se colocaron en baño María a  $80^\circ\text{C}$  durante 15 minutos, en seguida los tubos fueron enfriados en hielo por 10 min y se adicionó 1 mL del reactivo de arsenomolibdato y 7 mL de agua destilada y se mezcló. Se tomó una alícuota de 200  $\mu\text{L}$  y se registro la lectura a 540 nm en un lector de microplacas (Multi-skan Ascent, Labsystem, marca Thermo). Para la cuantificación de azúcares solubles en cada muestra, se hizo una curva estándar de glucosa (solución stock de 1.0 mg/mL) con concentraciones conocidas.

#### **3.3.2 Cuantificación de glucosa, fructosa, sacarosa**

Para la cuantificación de estos azúcares específicos se utilizaron los extractos vegetales concentrados y derivados del sistema Soxhlet. Para medir estos tres azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) en cada muestra vegetal, se utilizó una solución estándar, la cual incluyó 200  $\mu\text{L}$  de amortiguador HEPES 100 mM (pH 7.5), 10  $\mu\text{L}$  de NAD 40 mM, 10  $\mu\text{L}$  de ATP 100 mM pH 7, 10  $\mu\text{L}$  de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (0.05 U/1  $\mu\text{L}$  de amortiguador HEPES). Para la identificación y/o cuantificación de glucosa a los 220  $\mu\text{L}$  de la solución estándar se le

adicionaron 10  $\mu$ L de la muestra más 10  $\mu$ L de hexocinasa (0.05 U por 1  $\mu$ L de amortiguador HEPES), la reacción se dejó actuar por 20 min y se leyó a 340 nm. A esta misma muestra se le agregó 10  $\mu$ L de fosfoglucoasa isomerasa (0.06 U/1  $\mu$ L de amortiguador HEPES) para la consecutiva identificación de fructosa, esta reacción se mantuvo en incubación por 20 min y se leyó a 340nm. Para la determinación de la sacarosa se usó la misma muestra y se le adicionaron 10  $\mu$ L de invertasa (0.8 U/1  $\mu$ L de amortiguador de HEPES) y se dejó reaccionar por 20 min, se leyó a 340 nm. Todas las lecturas fueron realizadas en un lector de microplacas (Multiskan Ascent, LabSystem, marca Thermo).

### **3.3.3 Extracción de proteínas solubles**

Se pesaron 0.3 g de tejido vegetal congelado, el material verde se maceró en un mortero frío, se le adicionó tres volúmenes (0.9 ml) de amortiguador de extracción (compuesto por TRIS-HCl 40 mM,  $\beta$ -mercaptoetanol 15 mM y Fluoruro de fenil metil sulfonil (PMSF) 1 mM), pH 8.5. El extracto se centrifugó a 13 000 rpm durante 10 min. a 4°C. El sobrenadante se separó en tubos eppendorf y se mantuvo a 4° C en hielo para continuar con la determinación de proteínas solubles.

La determinación de proteínas solubles se realizó por el método de Bradford (1976). El ensayo de consistió en mezclar 3  $\mu$ L del extracto, 797  $\mu$ L de agua destilada y 200  $\mu$ L del reactivo de Bradford (Bio-Rad), se mezcló y se registró su absorbancia a una longitud de onda de 595 nm en un lector de microplacas (Multiskan Ascent, Labsystem, marca Thermo). Para la cuantificación de proteína soluble en cada muestra, se construyó una curva de calibración de albúmina de suero bovino (BSA) y se obtuvo una ecuación de regresión lineal.

Una vez conocida la concentración de proteína soluble, se calculó el volumen de la concentración (50 ug) de interés de cada muestra, este volumen se colocó en un tubo eppendorf frío y se le agregó un volumen conocido de la mezcla de corrida “magic mix” (TRIS-HCl 50 mM, 1.0 % (p/v) SDS, 1.0 % (v/v) B-ME, 10.0 % (v/v) Glicerol y 0.05 % (p/v) azul de bromofenol, pH a 6.8). La desnaturalización de la muestra se realizó a 90° C por 5 min.

Las muestras desnaturalizadas fueron cargadas en los carriles del gel de poliacrilamida-SDS al 12 % tipo discontinuo. Los geles fueron planos y verticales de 10 cm por 10 cm y 1.0 mm de espesor. La composición del gel separador consistió en 1.4 ml de agua destilada, 1.87 ml de TRIS-HCl 1.5 M, pH 8.8, 4.12 mL de Acrilamida-bisacrilamida 30.8 %, 75 µl de SDS 10 %, 37.5 µl de Persulfato de amonio 10 %, y 3.7 µl de TEMED. El gel concentrador consistió de 1.4 mL de agua destilada, 0.625 mL de TRIS-HCl 0.5 M pH 6.8, 0.45 mL de Acrilamida-bisacrilamida 30.8 %, 25 µl de SDS 10 %, 12.5 µl de Persulfato de amonio 10 % y 1.25 µl de TEMED. Al mismo tiempo, en un carril del gel se colocó una mezcla de proteínas de peso molecular conocido (Bio-Rad).

Posteriormente, el sistema se introdujo en una cámara de electroforesis, con adición de un amortiguador de corrida (TRIS-HCl 0.01 %, Glicina 1.15 %, SDS 0.8 %). El gel se dejó correr aproximadamente 2 hrs. a 80 Volts.

Para observar las bandas de las proteínas separadas el gel fue teñido con una solución de azul de coomassie R-250 0.1 %, metanol 30.0 % y ácido acético 10.0 %. Finalmente, para desteñir el gel se usó ácido acético 10 %, metanol 30 % y agua destilada cbp. y se analizó la intensidad relativa de las bandas, separadas.

Para la determinación de pesos moleculares (PM) de las proteínas de las muestras vegetales se calcularon sus respectivas movilidades relativas (Rm) y se compararon con la movilidad relativa de las proteínas de peso molecular conocido.

$$R_m = \frac{\text{Distancia recorrida por el soluto (cm)}}{\text{Distancia recorrida por el frente del colorante (cm)}}$$

El Rm de las proteínas marcadoras de peso molecular conocido se graficó contra el logaritmo ( $\text{Log}_{10}$ ) de cada PM específico para cada proteína marcadora, obteniendo así una ecuación de regresión lineal. La determinación de los PM de las proteínas de las muestras vegetales se realizó por sustitución de los valores Rm de las proteínas vegetales en experimentación en la ecuación de regresión lineal obtenida con las proteínas marcadoras.



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Emergencia y aparición de inflorescencias

La emergencia de teocintle (*Zea diploperennis*) fue a los 6 días después de la siembra y el maíz mostró un tiempo de emergencia similar, así como también los tiempos de la aparición de las inflorescencias masculinas y femeninas en teocintle y maíz V-107, las cuales fueron a los 79 dde para las masculinas en ambas especies y a los 82 dde para las femeninas en ambas especies.

### 4.2. Variables morfológicas

#### 4.2.1. Altura de la planta

La altura de teocintle fue prácticamente la misma a la del maíz V-107 durante las cuatro etapas fenológicas estudiadas y hasta los 90 dde. En la figura 1 se muestra la dinámica de crecimiento en altura de las plantas de teocintle y maíz V-107. No se encontraron diferencias significativas para el carácter altura ( $P \geq 0.05$ ) entre ambas especies vegetales. Se observó que a los 90 dde, la altura de las plantas de teocintle alcanzaron 1.62 m con un promedio general de 71.58 cm, y se obtuvo un incremento en promedio de  $0.9 \text{ cm día}^{-1}$ , hasta los 90 días posteriores a la emergencia de las plántulas. El maíz V-107 mostró valores de altura (1.64 m) similares a teocintle en el mismo tiempo (dde), a pesar de ser una variedad forrajera con características morfológicas de mayor altura.

La altura registrada en ambas especies entre los 57 y 93 dde fue inferior al promedio registrado por Manzano (2001), que trabajó con distintas variedades de maíz y reportó que entre los 58 y 101 días después de la siembra obtuvo 1.1 y 2.7 m, respectivamente. Mendiola (2005) también reportó promedios similares en su trabajo con una variedad de maíz forrajero. La altura de teocintle al término de la etapa de inflorescencia fue muy parecida a la altura alcanzada por el maíz V-107, esto se puede deber a las condiciones ambientales y al tiempo estacional en que se realizaron los experimentos. Es importante resaltar que la altura del teocintle fue similar a los valores reportados por Vargas (2004), quien reportó un promedio de 150 cm de altura en cultivos de maíz forrajero a los 80 días después de la siembra en condiciones de campo.

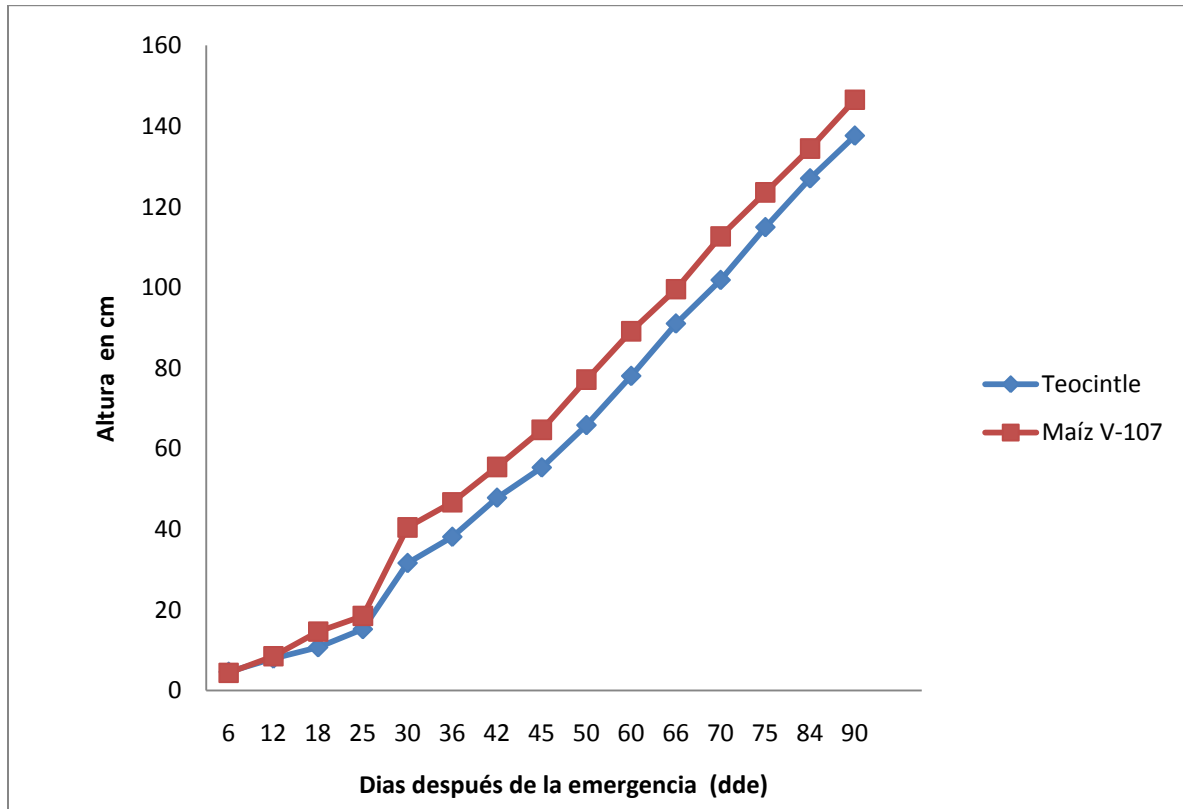


Figura 2. Dinámica del crecimiento en altura del teocintle y maíz V-107 desde los seis hasta los 90 días después de la emergencia. Las etapas fenológicas son las siguientes: Vegetativa: 25 dde; Vegetativa-Avanzada: 50 dde; Prefloración: 75 dde; Inflorescencia: 90 dde. No se encontraron diferencias significativas para el carácter altura ( $P \geq 0.05$ ) entre ambas especies.

#### 4.2.2. Área Foliar

En el cuadro 1 se observa el área foliar durante las cuatro etapas fenológicas de teocintle y maíz V-107 hasta los 90 días después de la emergencia. El área foliar de teocintle se incrementó conforme avanzó la etapa de desarrollo, hasta alcanzar 225 cm<sup>2</sup> por planta en la etapa de inflorescencia. Algunos autores como Tanaka y Yamaguchi (1982); Félix (1986); Alanís (1989) y Vargas (2004), mencionaron que en esta etapa las plantas desarrollan de 12 a 14 hojas liguladas y alcanzaron su máxima área foliar, y también coincide con la etapa de floración, que es cuando la planta finaliza su crecimiento. Félix (1986) y Alanís (1989) mencionaron que al inicio del período de llenado del grano el área foliar disminuye, debido a que el aparato laminar

de la planta empieza a perder follaje, por daño mecánico y/o por la senescencia natural del mismo. Tomando como referencia el área foliar obtenida por el maíz V-107 en la etapa de inflorescencia (441 cm<sup>2</sup>) se observó que el área foliar del teocintle (225 cm<sup>2</sup>) fue inferior. Comportamiento esperado debido que la variedad de maíz V-107 es de tipo forrajero y de alta productividad (Manzano, 2001; Mendiola, 2005).

Cuadro 1. Área foliar por planta producida en las cuatro etapas fenológicas en teocintle y maíz V-107.

Etapa	Área Foliar en cm <sup>2</sup>	
	Teocintle	Maíz V-107
Vegetativa	9.6 b	18.4 a
Vegetativa avanzada	103.6 b	216.9 a
Pre-floración	161.6 b	310.2 a
Inflorescencia	224.6 b	441.1 a

Medias con la misma letra dentro de líneas son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

En teocintle, las etapas con mayor área foliar fueron las de prefloración (75 dde) e inflorescencia (90 dde). La producción de área foliar en la etapa vegetativa inicial (primeros 25 dde) se caracterizó por un crecimiento lento. En las dos etapas siguientes; vegetativa avanzada y prefloración las plantas de teocintle desarrollaron de 8 a 10 hojas completamente liguladas, y se mostró un aumento significativo del área foliar. En la etapa de inflorescencia el teocintle presentó de 10 a 14 hojas, en ésta etapa las hojas continuaron con su crecimiento, hasta el inicio de la floración (75 dde), fase en que la planta finaliza su crecimiento y se inicia la etapa de reproducción. Tanaka y Yamagushi (1972), mencionaron que en el inicio del período de llenado del grano el área foliar disminuye, debido a que el aparato laminar empieza a destinar los asimilados a la producción y al llenado de grano, coincidiendo con lo consignado por Félix, (1986) y Alanís (1989). El área foliar activa se incrementa desde la emergencia de la plántula, esto es debido por una parte a que el desarrollo y crecimiento de un mayor número de hojas liguladas compensa la pérdida de las laminas foliares iniciales, y por otra parte, a que las láminas activas existentes persisten por mayor tiempo (Bulnes, 1993).

### 4.2.3. Producción de materia seca

En el Cuadro 2 se presenta el peso seco total de la planta en las cuatro etapas fenológicas estudiadas en teocintle y maíz V-107, al término de 90 dde. La acumulación de materia seca en lámina foliar, vaina y tallo de teocintle aumentó gradualmente conforme las plantas crecieron hasta la etapa de inflorescencia, alcanzando valores en esta última etapa de 78.8 g para la lamina foliar, de 42 g para la vaina y de 389.5 g para el tallo. La lámina foliar y principalmente el tallo fueron las estructuras que produjeron la mayor cantidad de materia seca. Los valores observados para maíz V-107 para lámina foliar y vaina fueron similares a los de teocintle, y para el caso del tallo de maíz en las etapas vegetativa, floración y sobre todo de inflorescencia los valores fueron más altos que en teocintle (Cuadro 2), lo cual es de esperarse debido a que esta variedad de maíz es de tipo forrajero y de alta producción (Manzano, 2001) y también se ha mencionado que la acumulación de materia seca en las plantas depende en gran parte del balance entre los procesos de fotosíntesis y respiración (Andrade *et al.*, 1996). Los fenómenos que afectan este balance se traducen en la eficiencia de la planta para acumular materia seca. La producción de materia seca está estrechamente vinculada con el aprovechamiento de la radiación solar incidente, de la capacidad del follaje para interceptarla y la eficiencia del cultivo para transformarla (Andrade *et al.*, 1996). En este sentido, la intercepción de la radiación solar que asegura las máximas tasas de crecimiento del cultivo, se logra cuando el índice del área foliar aumenta hasta llegar a un nivel máximo (Gardner *et al.*, 1985; Varlet-Grancher, 1982). Loaiza (1986) señaló que un órgano en crecimiento y activo consiste en 90-95 % de agua, el resto de materia seca consiste en carbohidratos, proteínas y aminoácidos en 80-90%, además de los minerales.

Cuadro 2. Producción de materia seca total (g pl<sup>-1</sup>) de teocintle y maíz V-107 en cuatro etapas fenológicas.

Órgano	Materia seca (g) en cuatro etapas fenológicas							
	Vegetativa (25 dde)		Veg. Avanzada (50 dde)		Pre-floración (75 dde)		Inflorescencia (90 dde)	
	Teoc.	Maíz	Teoc.	Maíz	Teoc.	Maíz	Teoc.	Maíz
Lámina Foliar	25.8 a	29.0 a	58.0 a	63.4 a	65.3 a	71.0 a	79.0 a	75.9 a
Vaina	15.0 b	20.6 a	25.5 b	36.2 a	38.4 b	58.0 a	42.0 b	66.0 a
Tallo	25.0 a	30.0 a	100 b	249 a	300 b	466 a	390 b	576 a

Medias con la misma letra dentro de líneas para cada etapa fenológica son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

En las primeras etapas de crecimiento, el incremento de materia seca se debe al desarrollo de las partes vegetativas, hasta la etapa de producción de grano, se alcanza un punto máximo y después el peso de la materia seca disminuye ya que la mayor parte de los fotosintatos se canalizan para la formación de fruto y/o semilla. En las primeras etapas de crecimiento de teocintle, la acumulación de materia seca se considera de producción lenta, y la acumulación es rápida en las etapas posteriores (Jiménez, 1996; Engrande, 2003; Mimila, 2003). Para el caso del maíz, Tanaka y Yamaguchi (1972) coinciden con esta misma propuesta, en que la producción de materia seca es lenta durante las primeras fases vegetativas en maíz y esta fase se termina al iniciarse ya sea la diferenciación de los órganos reproductivos o la elongación de los entrenudos, o bien ambos casos. En la etapa de inflorescencia de maíz existe una acelerada producción de materia seca de órganos vegetativos y de hojas, tallo y del primordio de órganos reproductivos, y es considerada como la etapa vegetativa activa descrita por Tanaka y Yamaguchi (1972). Mientras que Félix (1986) encontró en maíz que la máxima tasa de acumulación de materia seca se presentó en el periodo del 72% de hojas expuestas y en el 100 % de la floración femenina, esto concuerda con los trabajos en maíz de Tanaka y Yamaguchi (1984), Gardner *et al.* (1985), Alanís (1989); Molina (1992).

González (1983) mencionó que el aporte del tallo al peso total de la planta en especies de maíz puede variar entre 18.8% a 43.6%. Sin embargo, Acuña (1972) mencionó que este aporte puede ascender hasta 86% después de haber transcurrido 60 días después de la floración femenina. En concordancia Manzano (2001) reportó que a los 101 días de edad del cultivo, el tallo representa el 69.8% del peso total de la planta.

La producción de materia seca de teocintle en este estudio fue similar a lo reportado en variedades de maíz forrajero (Acuña, 1972; Engrande, 2003, Mimila, 2003, Vargas, 2004). Estos autores mencionaron que previo a la etapa del llenado de grano existe una disminución en el peso de lamina foliar y tallo, dicha disminución se considera el inicio del llenado del grano. Tanaka y Yamaguchi (1972) indicaron que durante la fase de llenado del grano, el peso seco de las hojas y tallos disminuye, lo cual se debe a procesos de traslocación de nutrientes hacia la mazorca. En distintos estudios se toma en cuenta el aporte de la mazorca en el peso total de la materia seca, éste varía entre el 45 y 50%, cuando la determinación se realiza en las etapas de madurez del cultivo (Sada, 1975; González, 1983; Engrande, 2003).

### **4.3. Contenido de carbohidratos**

#### **4.3.1. Azúcares solubles**

El Cuadro 3 muestra el contenido de carbohidratos solubles en la lámina foliar, en vaina y en tallo de teocintle (*Zea diploperennis*) y de maíz (*Zea mays* L.) V-107, la distribución de carbohidratos en los diferentes órganos y sus valores respectivos fueron variables. La lamina foliar presentó un mayor contenido de azúcares solubles, seguida por el tallo y la vaina de teocintle. Los valores se incrementaron a medida que la etapa fenológica fue más avanzada hasta los 90 dde. En el caso del maíz V-107 (cuadro 3) los valores obtenidos también fueron variables en los distintos órganos estudiados y son similares a los descritos en teocintle, mostrando ligeros incrementos para los tres órganos de maíz estudiados. Se observó diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre los diferentes órganos de teocintle, así como en maíz. En maíz como en teocintle la mayor concentración de azúcares solubles se observaron en la lámina foliar y en el tallo a los 90 dde (inflorescencia).

Cuadro 3. Contenido de azúcares solubles en diferentes órganos de teocintle y maíz V-107 en cuatro etapas fenológicas.

Carbohidratos solubles (mg g <sup>-1</sup> PF) en cuatro etapas fenológicas								
Órgano	Vegetativa (25 dde)		Veg. Avanzada (50 dde)		Pre-floración (75 dde)		Inflorescencia (90 dde)	
	Teoc.	Maíz	Teoc.	Maíz	Teoc.	Maíz	Teoc.	Maíz
Lámina Foliar	3.8 b	6.3 a	5.2 b	6.4 a	6.2 b	7.4 a	7.9 b	9.1 a
Vaina	1.2 b	2.5 a	2.3 b	3.9 a	3.3 b	3.3 a	3.9 b	5.0 a
Tallo	2.5 b	3.8 a	3.9 b	5.2 a	5.0 b	6.9 a	5.9 b	8.3 a

Medias con la misma letra dentro de líneas para cada etapa fenológica son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

Los valores de los azúcares solubles de teocintle en las etapas de prefloración e inflorescencia coinciden en los valores reportados por Clavero (1993), quien indicó que el contenido de carbohidratos de 10 gramíneas tropicales Pretoria-90 (*Dicanthium annulatum*), Stapf, Laurensa (*Pennisetum orientale*), Old World Bluestem (*Bothriochloa* spp), Verde y Klein-75 (*Panicum coloratum* L.), Wilman lovergrass (*Eragrostis superba*), y Alamo Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) fluctuaron entre 6.9 y 11.7 mg g<sup>-1</sup>; estos estudios fueron en tallos, láminas foliares y estolones. Smith, (1974); Deregibus, Trlica y Jameson, (1982); Andrade, (1996) también mencionaron que los órganos principales para el almacenamiento de reservas orgánicas en gramíneas perennes son la base de los tallos, los estolones, rizomas y la corona.

Hughes *et al.* (1974) mencionaron que las plantas experimentan periodos de consumo de carbohidratos de reserva y períodos de acumulación, desde la emergencia de la planta hasta la maduración de la misma, la mayoría de las especies de maíces forrajeros presentan un máximo de reservas nutritivas en los órganos de almacenamiento, al cesar el crecimiento longitudinal del tallo o en el estado de madurez. En este trabajo, el teocintle incrementó su contenido de carbohidratos conforme la planta llegó a la etapa de inflorescencia, la lámina foliar presentó un mayor contenido de azúcares que el tallo, esto puede ser debido a que el tallo es una estructura de paso por la cual se distribuyen o traslocan los fotosintatos (Engrande, 2003; Mimila, 2003).

Los mismos autores mencionan que para teocintle las reservas de carbohidratos se utilizan para el crecimiento después de cada corte (defoliación o pastoreo), también para producir calor y resistencia al frío, para sostener la emergencia de inflorescencias y la formación de semillas y para otros muchos de los procesos que tienen lugar en el organismo durante su ciclo de vida. La acumulación de carbohidratos solubles en maíz se observó en mayor nivel para lámina y tallo, en la etapa de inflorescencia (90 dde), estos resultados concuerdan en los reportados por Mendiola (2005), quien señaló que durante el proceso de maduración la concentración de carbohidratos aumenta conforme la planta va perdiendo contenido de materia seca. Por su parte Reyes (1990) indicó que el maíz es un forraje de alto valor nutritivo porque es una fuente importante de energía proporcionada por los carbohidratos que contiene y se encuentran distribuidos principalmente en la mazorca, más específicamente en los granos y en menor medida en las hojas. Adicionalmente, se puede decir que el tallo contiene una concentración relativamente considerable de azúcares, debido a que es una estructura que permite la transición de distintas sustancias nutritivas, en específico, cuando hay una importante movilización de azúcares del tallo hacia otras estructuras como la espiga durante el llenado del grano. Consecuentemente, el tallo disminuye o pierde concentración de estos solutos durante la etapa de inflorescencia (Mimila, 2003). Sin embargo, en muchas ocasiones estas variaciones se pueden deber a que cuando el cultivo llega a producir pocos granos, la fotosíntesis diaria puede superar la demanda de la planta y el exceso de asimilados puede acumularse en los tallos, los cuales actúan como un destino alternativo (Engrande, 2003)

#### **4.3.2 Distribución de glucosa, fructosa y sacarosa**

En la figura 2 se presenta la concentración y la distribución de los azúcares glucosa, fructosa y sacarosa en diferentes órganos de teocintle, los valores indican que la distribución de cada uno de estos azúcares es variable en cada órgano y en cada etapa fenológica estudiada. El órgano con la mayor concentración de los tres azúcares fue la lámina foliar en las cuatro etapas fenológicas, los azúcares glucosa, fructosa y sacarosa se incrementaron de una manera gradual durante el crecimiento de las plantas de teocintle, hasta los 90 dde.



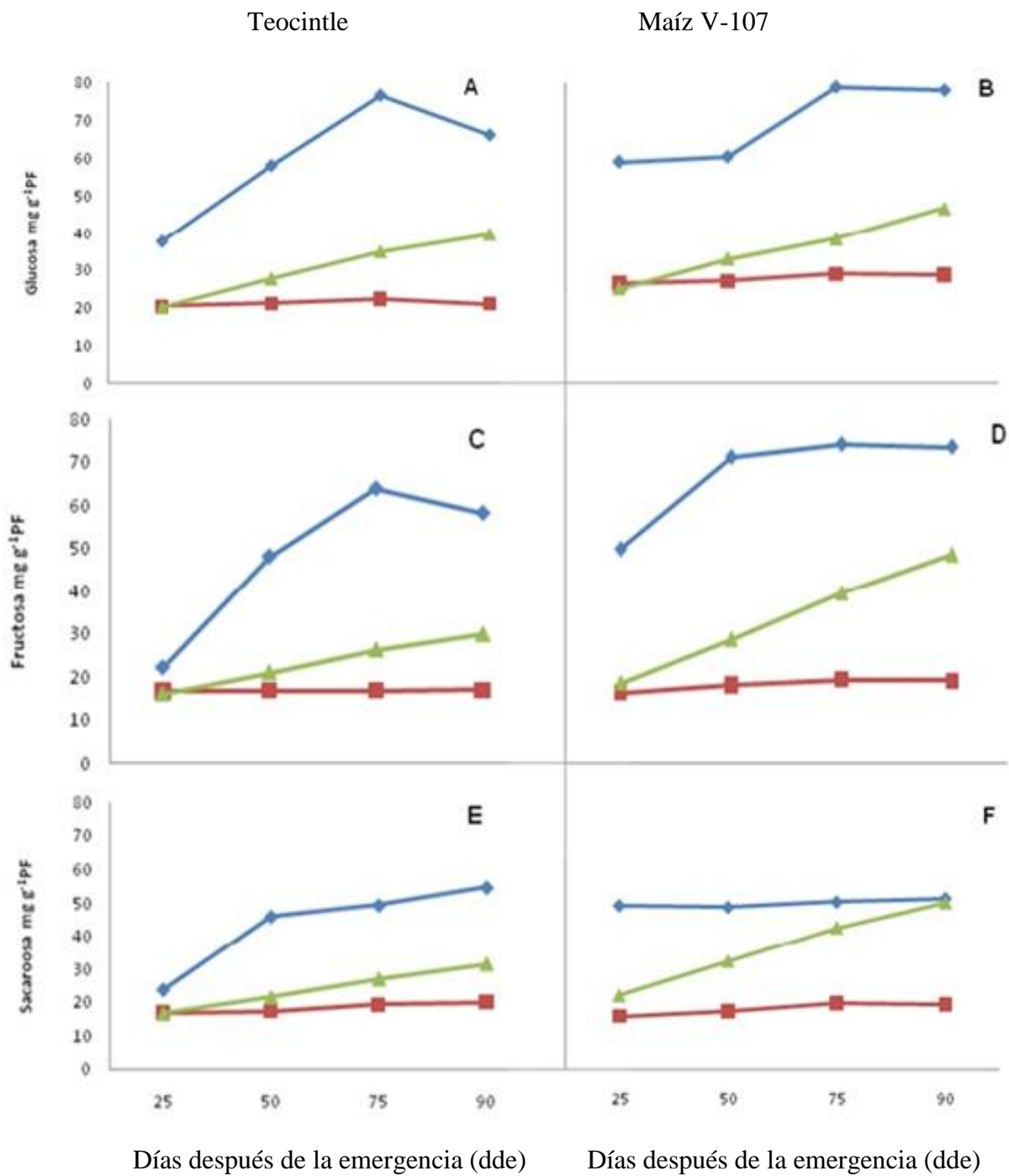


Figura 3. Identificación y distribución de glucosa, fructosa y sacarosa en teocintle y maíz V-107, en cuatro etapas fenológicas (vegetativa, 25; vegetativa avanzada, 50; prefloración, 75; inflorescencia, 90 dde). -♦- lámina foliar (A y B), -▲- vaina (C y D), -■- tallo (E y F).

El azúcar con mayor concentración en los diferentes órganos de teocintle fue la glucosa, seguido de la fructosa y finalmente el disacárido sacarosa. La glucosa se incremento de manera gradual en las diferentes etapas fenológicas alcanzando sus valores máximos de  $66.1 \text{ mg g}^{-1} \text{ PF}$  en la etapa de inflorescencia, la fructosa alcanzó valores de  $58.3 \text{ mg g}^{-1} \text{ PF}$  y la sacarosa de  $54.7 \text{ mg g}^{-1} \text{ PF}$  en la misma etapa de inflorescencia. La alta acumulación y distribución de la glucosa se debe que este monosacárido es básico, es uno de los productos del proceso fotosintético y es la fuente de energía principal en la mayoría de la plantas, sin ser la excepción teocintle y maíz. Adicionalmente, es fuente básica de una las principales rutas metabólicas centrales como es la glucolisis.

En la Figura 2 también se observa la distribución y contenido de los azúcares glucosa, fructosa y sacarosa en maíz V-107, en diferentes órganos del mismo y en cuatro diferentes etapas fenológicas. Los valores observados en maíz son altamente similares a los observados en teocintle, esto es en cuanto a que la glucosa fue el azúcar más abundante en todos los órganos estudiados, seguido por la fructosa y en menor grado la acumulación de la sacarosa. Estos resultados evidencian que tanto teocintle como maíz presentan estos azúcares específicos en sus diferentes órganos o estructuras, como consecuencia de la producción de fotosintatos durante el proceso de fotosíntesis, proceso que se realiza en las áreas verdes de las plantas, principalmente en hojas, como lo propone Mimila (2003). Estos resultados concuerdan con lo descrito por Salinas *et al.* (1992), quien mencionó que en cultivos de maíz la hoja inmadura presenta una zona de fuente y otra de demanda, y el balance de azúcares reductores y de sacarosa es diferente, así como también mencionó que las proporciones son variables en las distintas estructuras de la planta y además están en función del estado fenológico de la misma. Por su parte, Kalt-Torres y Hubert (1987) indicaron que la producción de fotosíntesis en maíz para el caso de las concentraciones de hexosas libres y de sacarosa aumentan en las primeras horas del día, y el contenido de almidón inicia su acumulación cuando la sacarosa alcanza su concentración más alta.

Los fotoasimilados son esenciales en el desarrollo en las primeras fases de la planta, sin embargo al llegar la etapa de prefloración son considerados sustancias de transición que posteriormente se translocan hacia las estructuras reproductivas, por la demanda de formación de frutos y/o llenado

de grano, y posteriormente inducir el rendimiento de la planta (Del Pozo *et al.*, 2002; Carrillo y Ruiz, 2004). El relativo contenido alto de azúcares en teocintle se puede considerar que es debido a la abundante ramificación que expresa la planta durante la fase de prefloración, la cual permite a la planta tener mayor dosel y con esto realizar la fotosíntesis con mayor cantidad y producción de fotoasimilados; tomando en cuenta que durante la etapa de llenado de grano en teocintle la demanda de fotoasimilados no es tan fuerte como es para las variedades de maíz domesticado (Cuevas, 2003; Engrande, 2003 Mimila, 2003).

Ho (1988) mencionó que la distribución de fotoasimilados dentro de la planta está regulada por la interacción fuente-demanda. Wolstenholme (1990) señaló que el orden de prioridad entre las demandas es una función de la tasa de crecimiento (actividad de la demanda) y al tamaño de las demandas, el orden usualmente es semillas > partes del fruto y ápices de brotes y hojas > cambium > raíces > tejidos de almacenamiento. Las hojas jóvenes tienen altas tasas metabólicas y de expansión, por lo tanto son demandas fuertes y compiten con otros órganos demandantes de la planta (Ho, 1988). Esto coincide con lo mencionado por Kruger, (1997), quienes indicaron que el carbono fijado por las plantas mediante la fotosíntesis es transformado a carbohidratos, especialmente sacarosa, que es la principal forma de transporte, y el almidón que es el principal polisacárido de almacenamiento dominante y puede ser convertido en sacarosa para traslocarse.

Por otra parte, Del Pozo *et al.* (2002), consignaron que el contenido de carbohidratos solubles y estructurales en pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) está determinado en alto grado por factores metabólicos relacionados con la fotosíntesis, respiración y distribución de nutrientes que pueda generar cada planta, y puede modificarse en correspondencia con el nivel de nitrógeno en la planta y el estado fisiológico de la misma, siempre que las condiciones climáticas no sean una limitación. En plantas forrajeras así como de cultivo, las sustancias de reserva son usadas para el mantenimiento de la planta y para la producción de biomasa aérea y subterránea en períodos de estrés, e incluyen azúcares reductores (glucosa, fructosa) azúcares no reductores (sacarosa), fructosanos y almidones (Holmes, 1982, Rincon *et al.*, 2008).

El contenido de carbohidratos no estructurales (glucosa, fructosa y sacarosa) en teocintle está relacionado con los procesos asociados con el crecimiento y mantenimiento de materia seca, al

terminar las cuatro etapas fenológicas se observa que en las tres primeras etapas hay un incremento debido a que las hojas principal estructura productora de carbohidratos, destina los fotosintatos a las estructuras demandantes de la planta (tallos, vaina), en teocintle a los 90 días después de la emergencia hay una disminución de contenido de glucosa y fructosa, mientras en sacarosa existió un incremento en su contenido, esto debido a la preparación de la planta hacia la etapa de inflorescencia. Mientras que en maíz V-107 los valores de glucosa, fructosa, sacarosa se incrementaron durante la etapa de inflorescencia, esto le permite disponer de sustancias de reserva durante el periodo de formación y llenado de grano.

#### **4.4 Cuantificación y caracterización de proteínas**

##### **4.4.1 Cuantificación de proteínas solubles**

La cuantificación de proteínas por el método de Bradford se muestra en el cuadro 4. Los valores observados para teocintle fueron variables, en los distintos órganos de las plantas y estos valores se incrementaron a medida que la etapa fenológica fue más avanzada, así de esta manera, la máxima concentración de proteínas solubles en teocintle se observó en la etapa de inflorescencia con 6.0 mg g<sup>-1</sup> P.F. en la lámina foliar, mientras que la vaina y tallo mostraron una menor concentración de proteínas, tal vez debido a que son órganos de transición y de enlace entre la raíz y la lámina foliar. Para el caso del maíz V-107 también se mostraron valores variables en el contenido de proteínas en los diferentes órganos de las plantas, la acumulación de proteínas alcanzó su máximo valor en la etapa de inflorescencia para la lámina foliar. Los órganos de vaina y tallo mostraron valores más bajos comparados con lámina foliar. Además, se observó una diferencia estadística ( $P \leq 0.05$ ) entre los diferentes órganos de teocintle, versus órganos de maíz. Estos resultados mencionados son similares a los reportados por Colinas (1974) que indicó que las vainas son estructuras de transición de los asimilados y sustancias nutritivas producidas por la planta, que en un momento dado son trasladados a otros órganos de la misma. El contenido de proteínas en la vaina fue menor comparado con los otros órganos de la planta, esto concuerda con lo reportado con Hanway (1971) que trabajó con varios híbridos de maíz, y señala que la disminución de materia seca en la vaina se debió a la traslocación de los fotoasimilados hacia el grano.

Cuadro 4. Contenido de proteína soluble en diferentes órganos de teocintle y maíz V-107 en cuatro etapas fenológicas.

Proteína soluble ( mg g <sup>-1</sup> PF) en etapas fenológicas								
Órgano	Vegetativa (25 dde)		Veg. Avanzada (50 dde)		Pre-floración (75 dde)		Inflorescencia (90 dde)	
	Teoc.	Maíz	Teoc.	Maíz	Teoc.	Maíz	Teoc.	Maíz
Lámina Foliar	3.4 b	9.8 a	4.6 b	13.4 a	4.9 b	15.0 a	6.0 b	15.7 a
Vaina	1.3 a	1.7 a	2.4 a	1.8 b	2.8 b	3.8 a	3.0 b	4.8 a
Tallo	4.4 b	3.2 b	5.4 a	4.8 b	6.0 a	5.2 b	6.3 b	6.3 a

Medias con la misma letra dentro de líneas para cada etapa fenológica son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

El contenido de proteínas solubles de teocintle fue inferior comparado con los valores obtenidos en maíz forrajero (V-107), el cual alcanzó valores altos en las etapas vegetativa-avanzada, prefloración e inflorescencia (15.74 mg g<sup>-1</sup> P.F.). Estos resultados fueron cercanos a los reportados por Pérez (2007), quien reportó valores de proteína de 23.61 a 28.61 mg g<sup>-1</sup> PF en plántulas de maíz chalqueño. Mientras que Morales (1996) reportó un contenido de proteína soluble de 12.8 mg g<sup>-1</sup> PF a los 56 días de la antesis en maíz, var. Zacatecas 58. Otros autores (Chauhan *et al.*, 1981; Church, 1984; Kertész, 1984, Kirilov y Naidenov, 1992; McDonald *et al.*, 1993; Muslera y Ratera, 1984) señalaron que el contenido de proteína en la planta disminuye conforme avanza la edad al igual que la digestibilidad y la energía también decrecen. A partir de la brotación de las yemas hasta la madurez, el contenido de proteína va disminuyendo al igual que los carbohidratos solubles (Church, 1984).

En diversas investigaciones se ha demostrado que las hojas son la parte de la planta que tiene más proteína (Enzmann y Salem, 1984, Holecheck *et al.*, 1989; Bilanski, 1992; Bunting *et al.*, 1978; Maynard *et al.*, 1992; Nichols *et al.*, 1989; Van Soest, 1994) y son mas digestibles que los tallos (Holechek *et al.*, 1989; Bunting *et al.*, 1978; Bilanski, 1992; Van Soest, 1998). Según Secor *et al.* (1982), el contenido de proteína soluble en las hojas está funcionalmente relacionado con la fotosíntesis, por lo que el contenido podría ser utilizado para estimar diferencias en la capacidad fotosintética entre especies. Dicho contenido también ha sido utilizado como un estimador de la cantidad de la Ribulosa 1,5- difosfato carboxilasa oxidasa (Rubisco), enzima

responsable de la fijación de CO<sub>2</sub>. Por ejemplo, las plantas de sombra tienen menor contenido de proteína soluble y de Rubisco, comparadas con las de luz (Boardman, 1977). Un comportamiento similar muestran plantas de fresa (*Fragaria x Anannasa Duch.*) obtenidas in vitro (Acosta *et al.*, 1997).

#### 4.4.2 Separación de proteínas por electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS).

En la Figura 3 se muestra el perfil electroforético de proteínas de la lámina foliar de plantas de teocintle y de maíz, en cuatro diferentes etapas fenológicas.

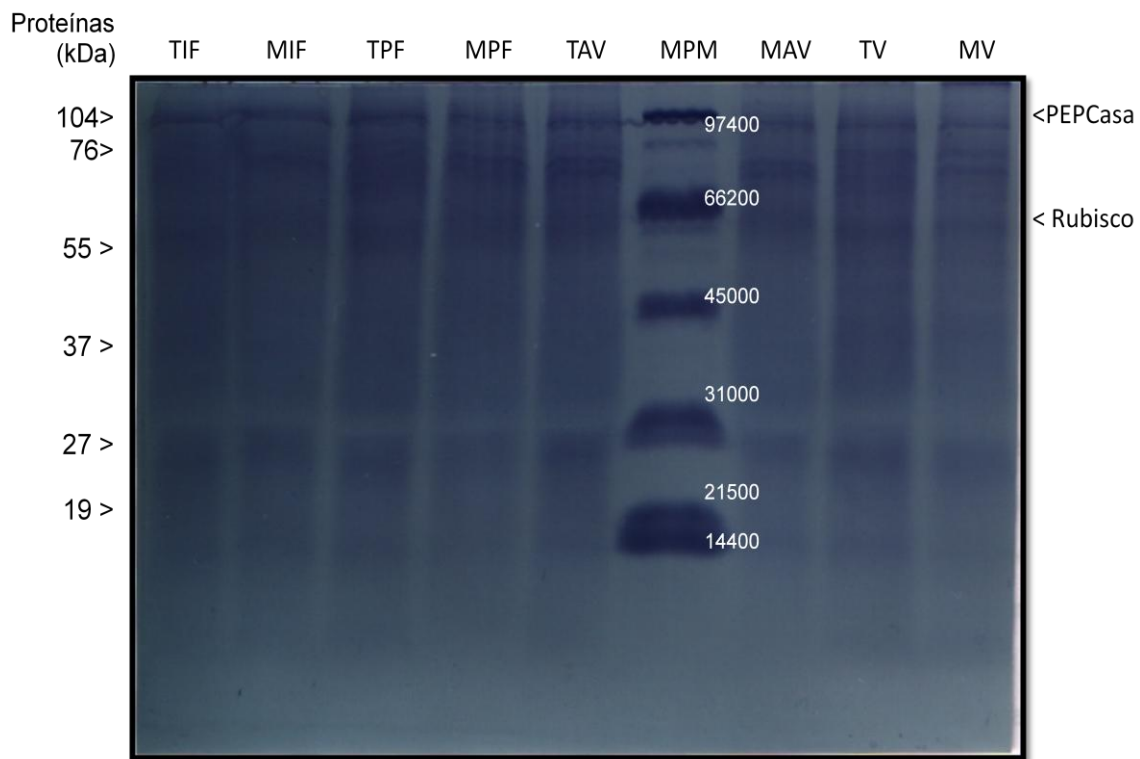


Figura 4. Separación de proteínas por electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS) de lamina foliar de teocintle y maíz V-107, en cuatro etapas fenológicas. Carriles: teocintle vegetativa (TV), vegetativa-avanzada (TVA), prefloración (TPF) e inflorescencia (TIF); maíz vegetativa (MV), vegetativa-avanzada (MVA), prefloración (MPF) e inflorescencia (MIF). Marcadores de peso molecular (MPM). PEPCasa (104 kDa) y Rubisco (55 kDa).

En principio se procedió a la extracción de proteínas solubles de los diferentes órganos en las plantas estudiadas, así como en cuatro de sus diferentes etapas fenológicas. Se determinó la concentración de la proteína de la lamina foliar por el método de Bradford (1976), así como también del tallo y las muestras fueron analizadas en el gel de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes (Laemli *et al.*, 1970; Makino *et al.*, 1986).

En la Figura 3 se puede evidenciar la existencia y la separación de proteínas específicas de la lámina foliar, ya sea tanto para el teocintle como para maíz forrajero V-107. En general se puede decir que los perfiles de expresión de proteínas son altamente similares o comunes en el tejido de la lámina foliar para ambas especies vegetales. Algunas bandas se observan con mayor intensidad y/o densidad, para las primeras etapas fenológicas (TV: teocintle vegetativa, TVA: teocintle vegetativa avanzada y MV: maíz vegetativa, MVA: maíz vegetativa avanzada) del desarrollo de las plantas, y con posterior disminución en las etapas avanzadas: TPF: teocintle prefloración, MPF: maíz prefloración y TIF: teocintle inflorescencia y MIF: maíz inflorescencia. Las proteínas con mayor grado de intensidad son las que presentaron pesos moleculares (PM) altos y se encuentran en los rangos de PM de 55 a 104 kDa. Las bandas de proteínas separadas que presentaron pesos moleculares de 104 kDa y de 55 kDa corresponden a la fosfoenol piruvato carboxilasa (González, 2008) y a la subunidad mayor de la ribulosa bisfosfato carboxilasa (González, 2008; González, 2009) respectivamente. Ambas proteínas son características de las plantas de maíz que presentan un tipo de metabolismo C<sub>4</sub>.

Es importante mencionar que la fosfoenol piruvato carboxilasa y la ribulosa bisfosfato carboxilasa no habían sido reportadas previamente para lámina foliar de teocintle e incluso para la planta *per se*. En el presente trabajo no solo se evidencian estas proteínas sino que también se observó que estas se incrementan (Cuadro 4) y se mantienen hasta etapas tardías del desarrollo de las plantas de teocintle, estas proteínas también fueron expresadas y mantenidas hasta etapas tardías para maíz forrajero. El teocintle ha sido clasificado como una planta con fotosíntesis tipo C<sub>4</sub> al igual que el maíz, las cuales llevan a cabo la fijación del CO<sub>2</sub> mediante la participación de dos proteínas fundamentales: la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPcase) y la rubisco (Ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa). La primera se encuentra en el mesófilo, mientras que la Rubisco se encuentra en los cloroplastos del haz vascular (Ray y Black, 1979; Cockburn, 1983;

López *et al.*, 2007; Raya y Aguirre, 2008). La oxigenación de la ribulosa 1-5 bisfosfato (rubisco) constituye la primera reacción de la vía conocida como fotorrespiración. En esencia, es un proceso disipador de energía que bajo ciertas condiciones repercute seriamente en el rendimiento de materia seca (Lorimer, 1981). La PEPcase, PEPCCK (fosfoenolpiruvato carboxinasa) y Rubisco son de las enzimas de mayor actividad en la hoja de maíz, e influyen en la productividad fotosintética que realice la planta (González, 2008; González, 2009). Por otra parte, Sugiharto *et al.* (1990) indicaron que estas tres proteínas conforman aproximadamente el 8, 6 y 35% del total de proteína soluble en hoja, respectivamente, en plantas de *Zea mays* L., estos mismos autores señalaron que también se presenta una disminución en las proporciones de PEPcase y PEPCCK al incrementarse la proporción de la Rubisco. La actividad enzimática de la PEPcase se ha demostrado en especies C<sub>3</sub> y en especies C<sub>4</sub> (entre ellas *Zea mays*), las especies C<sub>4</sub> presentaron mayor actividad que las especies C<sub>3</sub>. *Zea mays* registró una actividad de 348 a 1151  $\mu\text{moles mg}^{-1}$  de clorofila  $\text{h}^{-1}$ , y C<sub>3</sub> osciló entre 16 y 45  $\mu\text{moles mg}^{-1}$  de clorofila  $\text{h}^{-1}$  (Rajagopalan *et al.*, 1993). La expresión de la PEPcase en el mesófilo es posterior a la expresión de la Rubisco en células de la vaina, esto ha sido observado en hojas jóvenes de maíz, amaranto y *Atriplex rosea* y podría deberse a que la vaina ya está de limitada antes de que cesen las divisiones celulares en el mesófilo (Drincovich *et al.*, 1998).

El perfil electroforético de la lamina foliar evidencia la presencia de otras bandas de proteínas con PM bajos que fluctuaron entre 19 y 37 kDa, estas se expresaron en las cuatro etapas fenológicas, tanto en maíz como en teocintle. Las más conspicuas muestran PM de 35, 27 y 19 kDa, pero lamentablemente no se tiene ninguna referencia de quiénes son y cuáles son sus funciones, lo que sí se puede asegurar es que son proteínas que están bien establecidas en la lámina foliar, ya sea tanto para teocintle como en maíz, y por lo tanto deben también tener funciones relevantes en el metabolismo de ambas especies. Es interesante notar y mencionar que a nivel de expresión de proteínas en el tejido verde las proteínas separadas se presentan tanto en la especie de maíz como de teocintle, esta última a pesar de ser una especie silvestre y ancestral, y puede indicar que a través del proceso evolutivo ha habido un patrón altamente conservado de estas proteínas y por consiguiente genético. Para saber si estas mismas proteínas se presentaban en el tallo verde de las plantas se procedió a la extracción de proteínas del órgano del tallo, en cuatro etapas fenológicas de las plantas, y estas se analizaron en gel (PAGE-SDS). En la Figura 4



se pueden evidenciar la presencia de algunas proteínas de la estructura del tallo, tanto en teocintle como en maíz V-107, estas proteínas se mantienen hasta las etapas avanzadas de la fenología de las plantas como es la inflorescencia. Los perfiles de las proteínas separadas se observan muy uniformes para ambas especies, no hay diferencias notables en cuanto a su intensidad de expresión, en cuanto a presencia y ausencia de bandas específicas o incluso en cuanto a las diferentes etapas fenológicas estudiadas. Estos resultados pueden indicar que ambas especies (teocintle y maíz) presentan un origen bioquímico y posiblemente genético en común y conservado a través del tiempo evolutivo. Al igual que en las proteínas de la lámina foliar, este gel de proteínas de tallos también evidencia la presencia de proteínas con diferentes pesos moleculares (PM), resaltando de entre ellas la PEPCasa y la Rubisco, como proteínas importantes del proceso de la fijación de CO<sub>2</sub>, las cuáles son fundamentales para su consecutiva transformación a productos como los fotosintatos, que son básicos para la nutrición y demás procesos fisiológicos del desarrollo y productividad de las plantas.

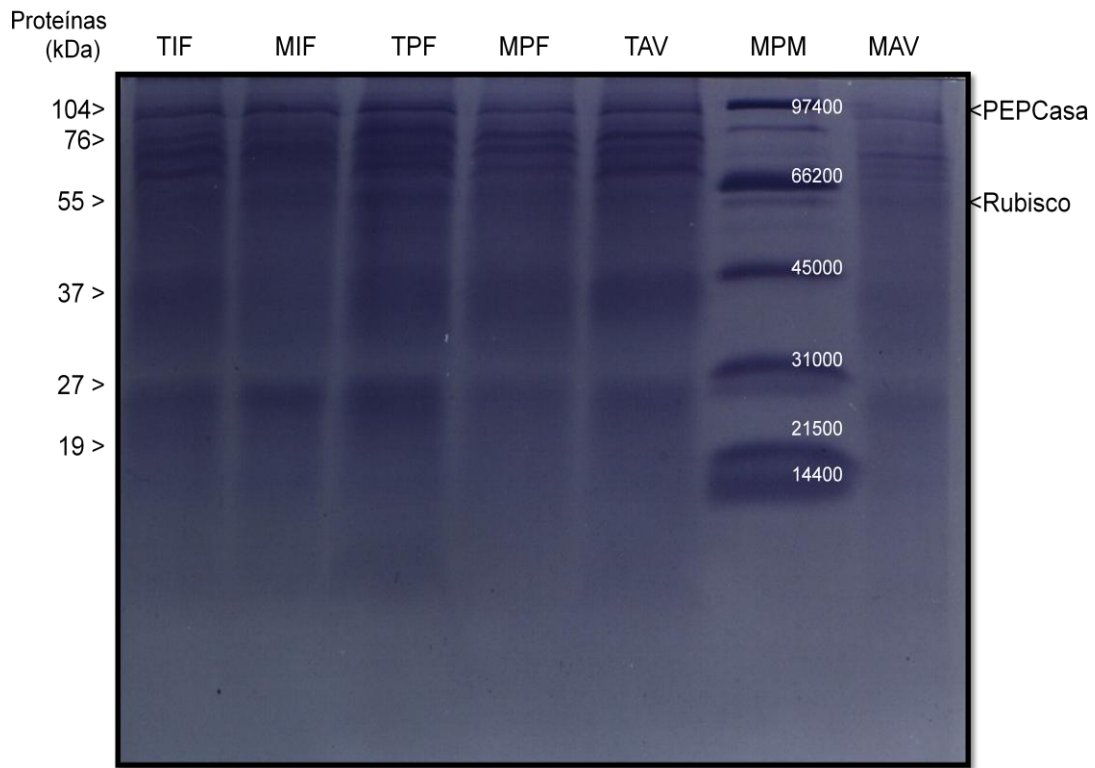


Figura 5. Separación de proteínas por electroforesis en gel de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes (SDS) de tallo de teocintle y maíz V-107, en cuatro etapas fenológicas. Carriles: teocintle vegetativa (TV), vegetativa-avanzada (TVA), prefloración (TPF) e inflorescencia (TIF); maíz vegetativa (MV), vegetativa-avanzada (MVA), prefloración (MPF) e inflorescencia (MIF). Marcadores de peso molecular (MPM). PEPCasa (104 kDa) y Rubisco (55 kDa).

## V. CONCLUSIONES

La altura del teocintle y de maíz forrajero fue similar a los 90 días después de emergencia (inflorescencia). El área foliar de teocintle fue inferior con respecto a la del maíz V-107.

La lámina foliar y el tallo fueron los órganos con mayor acumulación de materia seca en las cuatro etapas fenológicas, el tallo fue la órgano con mayor aporte de materia seca a los 90 dde.

La acumulación de azúcares solubles en los distintos órganos de las plantas fue variable y depende de la etapa fenológica de la planta y del órgano de la misma. La acumulación de estos azúcares en las primeras etapas estudiadas fue más alto en la lámina foliar y disminuyeron en la etapa de inflorescencia.

Se evidenció la presencia y distribución de azúcares específicos como la glucosa, fructosa y sacarosa en la lámina foliar, vaina y tallo de teocintle, así como de maíz, con concentraciones variables. La distribución de estos azúcares se modificó en las diferentes etapas de crecimiento, así como en los órganos analizados.

La lámina foliar de teocintle y de maíz fue el órgano que presentó el mayor contenido de proteínas seguida por la vaina y el tallo. El contenido de proteínas en teocintle y en maíz se mantuvo durante las diferentes etapas fenológicas estudiadas. Las proteínas más relevantes en la lámina foliar y en el tallo fueron la PEPCasa y la RUBISCO en las cuatro etapas fenológicas, tanto para teocintle como para maíz.

En general, existe alta similitud en los valores obtenidos de los caracteres morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en teocintle y en maíz V-107, a pesar de ser este último de clasificación forrajera y teocintle como una especie silvestre.

Con estos estudios se demuestra que teocintle (*Zea diploperennis*) presenta propiedades agronómicas, fisiológicas y bioquímicas confiables, por lo tanto tiene un alto potencial para ser utilizado como una especie alterna de forraje.

## VI. LITERATURA CITADA

- Acosta D., E. y S. J. Kohashi. 1988. Crecimiento y rendimiento de maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en unicultivo y asociación. *Agrociencia* 71:345-356.
- Acosta R., M. C., A. Villegas, M. T. Colinas, M. E. Engleman. 1997. Efecto del  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  en la micropropagación de fresa (*Fragaria x Anannasa* (Duch). *Proc. Interam. Soc. Trop. Hort.* 41:113-118.
- Acosta D., E. 1985. Crecimiento, rendimiento y aprovechamiento de la energía solar en maíz (*Zea mays* L.) en unicultivo y asociados. Tesis de Maestría, Colegio de postgraduados, Montecillo, Edo. de México, p. 9-16.
- Acuña A., R. 1972. Efecto de la fecha de cosecha sobre la producción y análisis químico proximal de grano y forraje en la variedad de maíz (*Zea mays* L.) NLVS-1 en Apodaca, N.L, durante la primavera de 1971. Tesis de licenciatura. ITESM Monterrey, N.L. p.73.
- Alanís Crispín, J. A. 1989. Caracterización fisiotécnica de 15 genotipos de maíz (*Zea mays* L.). Tesis de licenciatura. Zootecnia, Universidad Autónoma de Chapingo, Edo de México. p 11-13.
- Alviso, R. E. 1982. Determinación de la curva de producción de gramíneas perennes en siembras puras. Tesis profesional. Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo, México.
- Andrade, F., A. Cirilo, S. Uhart, y M. Otegui. 1996. Ecofisiología del cultivo de maíz. Ed. La Barrosa. Balcarce. Buenos Aires. 23 p.
- Avigad, G., and P.M. Dey. 1997. Carbohydrate metabolism: Storage carbohydrates. p. 143–204. *In* P.M. Dey and J.B. Harborne (ed.). *Plant biochemistry*. Academic Press, San Diego.

- Baker, H. R. and E.A. Garwood. 1961. Studies in the root development of herbage, studied root under two cutting treatment. J. Br. Grass Soc. 16:262-267.
- Beaudry, R. M., R. F. Severson, C.C. Black, Z. J. Kays. 1989. Banana ripening: Implications of changes in glycolytic intermediate concentrations, glycolytic and gluconeogenic carbon flux and fructose 2,6-biphosphate concentration. Plant Physiol. 91: 1436-1444.
- Beerling, D.J., R. A. Berner. 2005. Feedback and the coevolution of plants and atmospheric. Proc Natl. Acad Sci. 102:1302-1305.
- Benz, B.F., L. R. Sánchez y F. Santana. 1990. Ecology and ethnobotany of *Zea diploperennis*: preliminary investigations. Maydica 35: 85-98.
- Bidwell, R. G., 1979. Plant physiology. Collier McMillan. Int. Edit. p.713-726
- Bilanski, W. K. 1992. Enhanced utilization of forage plants through fractionation: state of the art. Herbage Abstracts 62(9):363.
- Boardman, N. K. 1977. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 28: 355-377.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Anal. Biochem. 72:248-254.
- Brown, R. H. y R.E. Blaser, 1968. Leaf area index in pasture growth. Harbege Abstracts 38 (1968). p 1-9.

- Bulnes Castillo, S. 1993. Eficiencia fisiológica para producción de materia seca y grano en maíz. Tesis de Licenciatura, Zootecnia, Universidad Autónoma de Chapingo, Edo de México, p.7-16.
- Bunting, E. S., B.F. Pain, R.H. Phipps, J. M. Wilkinson, R.E. Gunn. 1978. Forage maize, Agricultural Research council, London. P 252.
- Buwai, M. and M.J. Trilica. 1977. Defoliation effect on root weights and total non structural carbohydrates of blue grama and western wheatgrass. Crop. Science. 17:15-17.
- Carrillo, J. y J. Ruíz. 2004. Producción de forraje en sorgo y mijo: variables de crecimiento. Agronomía mesoamericana 15 (1): 69-76.
- Cerling, T. E., J. M. Harris, B. J. McFadden, M. G. Leakey, J. Quade, V. Eisenmann, J. R. Ehleringer. 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary Nature 389: 153-158.
- Clavero, T. 1993. Effects of defoliation on non-structural carbohydrates levels in tropical pastures. Rev. Fac. Agron. (Luz) 10:126-132.
- Colinas León, M. T., 1974, Análisis del contenido de proteínas del maíz H-28 en diferentes etapas fisiológicas de su desarrollo, Tesis de Maestría, Botánica, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. p. 5-16.
- Cockburn, W. 1983. Stomatal mechanism as the basis of the evolution of CAM and C<sub>4</sub> photosynthesis. Plant, Cell and Environment 6:275-279.
- Coombs, J., D. Hall, S. P. Long, J. O Scurlock. 1988. Técnica en fotosíntesis y bioproductividad. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México, p. 181-188

- Cruz, P. and J.M. Huguet. 1995. Requerimientos de nitrógeno y carbono para el rebrote de una pradera de pangola defoliada frecuentemente. XIV Reunión Asociación Latinoamericana de Producción Animal. 19o Congreso APPA. Mar del Plata, Argentina. 25 pp
- Cuevas Sánchez J. A., 2003. Domesticación inicial del maíz: evaluación experimental de algunos móviles. Tesis de Doctorado, Fitotecnia, Universidad Autónoma de Chapingo. P: 5-19.
- Charles-Edwards D.A., D. Doley, G. M Rimmington. 1986. Modeling Plant Growth and Development. Acad. Press, North Ryde, NSW, Australia
- Chruch, D. C. 1984. Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Editorial Limusa. México.
- Chauhan, T. R., S.S Randhawa and A. K. Chopra. 1981. Anote in the effect of stage of maturity on the yield and nutritiv value of maize (*Zea mays*) fodder hay. Herbage Abstracts, 51(7):361.
- Chollet, R., J. Vidal, M. H. O'leary. 1996. Phosphoenolpyruvate carboxylase: A ubiquitous, highly enzyme in plants. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. BII. 47:273-298.
- Daie, J. 1985. Carbohydrate partitioning and metabolism in crops. Horticultural Review. V. 7. P. 69-108.
- De Luca D'Oro, M. y V. S. Trippi. 1982a. Disciplina El proceso de la senescencia en las hojas de avena y su reglamento de concentración de oxígeno y la luz de irradiación. Plant Cell Physiology, 1985, vol. 26, No. 7:1303-1311.

- De Luca D'Oro, M. y V. S., Trippi. 1982b. Regulación de clorofilas y proteínas solubles por cinetina y cicloheximida, en condiciones de luz y oscuridad, durante la senescencia foliar de *Phaseolus vulgaris* L. *Oyton* 42:73-82.
- Del Pozo, P.P., R. S. Herrera and M. García. 2002. Efecto de la aplicación de nitrógeno en la asimilación neta, acumulación de carbohidratos y compuestos nitrogenados en el pasto estrella *Cynodon nlemfuensis* explotados bajo condiciones de corte. I Foro Latinoamericano de Pastos y Forrajes. [cd -rom]. Instituto de Ciencia Animal, San José de las Lajas, Cuba
- Demolon, A. 1972. Crecimiento de vegetales cultivados. 5a. Edición. Editorial OMEGA. Barcelona, España. Traducido por José Pérez M. 587 p.
- Deregibus, V.A., M.J. Trlica, and V.K. Jameson. 1982. Handbook of agricultural productivity. V.1 CRC Press, Boca Raton, FL. p. 315-344.
- Deroche, M. E. and E. Carrayol. 1988. Nodule phosphoenolpyruvate carboxylase: a reiew. *Physiol. Plant.* 74: 775-782.
- Doebley, J.F. 1990. Molecular systematics of *Zea* (Gramineae). *Maydica* 35: 143-150.
- Doebley, J.F. 1993. Sistemática molecular de *Zea* (Gramineae). En B.F Benz (Compilador) *Biología, ecología y conservación del género Zea*. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. p 43-58.
- Donaghy, D.J, W.J Fulkerson. 1998. Priority for allocation of water soluble carbohydrate reserves during regrowth of *Lolium perenne* (L.). *Grass and Forage Sci.* 53:211
- Donald, C. M., y J. Hamblin. 1976. The biological yield and hervest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria. *Adv. Agron.* 28:361-405.



- Drevdahl, R.A. and K.V. Thimann. 1977. Proteases of senescing oat leaves I. Purification and general properties. *Plant Physiol.* 59:1059--1063.
- Droncovich, M.F., P. Casati, C.S. Andreo, S.J. Chessin, V.R. Franceschi, G. E. Edwards, M.S.B. Ku. 1998. Evolution of C<sub>4</sub> photosynthesis in *Flaveria species*. *Plant Physiol.* 117:733-744.
- Duncan, W. G. 1975. Maize. In: *Crop physiology: some case histories*. Ed L.T. Evans. Cambridge University Press. London, Great Britain, p. 23-50
- González R. J. 1983. Evaluación de 8 variedades comerciales de maíz (*Zea mays* L.) de forraje y grano durante el verano de 1983. Apodaca, N.L., Tesis profesional. ITESM. Ciencias agropecuarias y marítimas. Monterrey, N.L. p. 34
- Engrande, S. D. 2003. Patrón de acumulación de masa de forraje de teocintle (*Zea diploperennis* Iltis, Doebley, Guzmán & Pasy) durante otoño e invierno en Medellín, Veracruz. Tesis de profesional, Zootecnia, Universidad Autónoma de Chapingo. p. 56
- Enzmann, J. and M.S. Salem. 1984. Influence of different nitrogen fertilization on dry matter formation and nitrogen uptake during the growth period of silage maize with reference to individual organs. *Herbage Abstracts*, 54 (2-3):59.
- Escalante E.J. y J. Kohashi. 1993. El rendimiento y crecimiento del frijol. Manual para toma de datos. Colegio de postgraduados. México 84 pp.
- Félix Valencia, P., 1986. Patrón de análisis del crecimiento de tres variedades de maíz (*Zea mays* L.), Tesis de Maestría, Botánica, Colegio de Postgraduados. Montecillos, Edo de México. p. 13-17.
- Flengsrud, R. and G. Kobro. 1988. A method for two-dimensional electrophoresis of proteins from green plant tissues. *Analytical Biochemistry*. 177:33-36

- Fortes D., R. S. Herrera y S. González, 2004. Estrategias para la resistencia de las plantas a la defoliación. Revista Cubana de Ciencia Agrícola, tomo 38, No. 2, p. 111-119.
- Foyer, H. CH. 1987. Fotosíntesis. 1ª Edición. Cia. Editorial Continental. S.A. México, D.F., p.95-98.
- Gardner, B. R., R. B. Pearce y R. L. Mitchell. 1985. Physiology of crops plants. Iowa State University press. USA.
- González Aguilar, S. 2009. Enverdecimiento de la espata de *Spathiphyllum wallisii* Regel. Tesis de Maestría, Botánica, Colegio de postgraduados, Montecillo, Edo de México, 13-45.
- González Santos, R. 2008. La citocinina BAP en el metabolismo primario de hojas senescentes de trigo. Tesis de maestría, Botánica, Colegio de postgraduados, Montecillo, Edo de México, p.67-70.
- Hanway, J.J. 1971. Cómo se desarrolla una planta de maíz. México. 26 p.
- Hatch, M.D. and C.B. Osmond. 1976. Encyclopedia of Plant Physiology. New Series, ed. M. Gibbs & E. Latzko. Springer, New York. 3:144-184.
- Hay, R. M. and A.J. Walker. 1989. Dry – matter partitioning, pp. 114-121. *In: An introduction to the physiology of Crop yield.* Hay, R.K. M.: Walker, A.J. Y. (eds). John Wiley and Sons. New York, USA.
- Ho, L. C. 1988. Metabolism and compartmentation of imported sugars in sink organs in relation to sink strength. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* 39:355-378.
- Holechek, L., R.D. Pieger and C.H. Herbert. 1989. Range management: principles and practices. Hall, Inc. Englewood Cliff, N.J., U.S.A. p 345.

- Holmes, W. 1982. Grazing management. p. 125-174. In: W. Holmes. (ed.). Grass: its production and utilization. British Grassland Society, Great Britain. 459 p.
- Hopkins, W. G. 1999. Introduction to plant physiology. 2<sup>a</sup>. Ed. John Willey & Sons. Inc., New York. 512 p.
- Hughes, H.D., M. E. Heat and D. S. Metcalfe. 1975. Forrajes. Quinta impresión. Compañía editorial continental. México. P 758.
- Iltis, H.H., J.F. Doebley, R. Guzman y B. Pazy. 1979. *Zea diploperennis* (Gramineae): A new teosinte from México. Science 303: 186-188.
- Jensen, W.A. y F.B. Salisbury. 1988. Botánica. Mc.Grow Hill, México.
- Jiménez - Gómez, R.G. 1991. Crecimiento y desarrollo de *Zea diploperennis* con base en rizomas transplantados en la estación científica Las Joyas. Tesis profesional. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. 102 p.
- Jiménez Gómez, R.G. 1996. Determinación *in situ* del potencial forrajero del teocintle perenne *Zea diploperennis* Iltis, Doebley, Gúzman & Pazy.
- Jiménez C.A y L.E. Mendoza O. 1981. Comparación de métodos indirectos para la comparación del área foliar en sorgo *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Agricultura Técnica en México 7(2): 113-125.
- Kalt-Torres, W. and S.C. Huber. 1987. Diurnal changes in maize leaf photosynthesis. Plant Physiol. 83, 294-298.
- Kertész, Z. 1984. Variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de semillas. Editorial Limusa. México p 841.

- Kirilov, A. and T. Naidenov. 1992. Composition, yield, intake and digestibility of green maize. 1. Changes in DM, morphological and chemical composition. *Herbage Abstracts* 62(8):324.
- King, B.J., D.B. Layzell and D.T. Canvin. 1986. The role of dark CO<sub>2</sub> fixation in root nodules of soybeans. *Plant Physiol.* 81: 200-205.
- Kohashi S. J. 1979. Fisiología del frijol. En: contribuciones al conocimiento del frijol (*Phaseolus*) en México. E.M. Mark Engleman. (Ed.) Rama de botánica, Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. P.39-58.
- Kruger J. N. 1997. Carbohydrate synthesis and degradation. *In: Plant Metabolism.* Dennis D. T., D. B. Layzell, D.D. Lefebvre, D. H. Turpin (eds). Longan. Essex, England. Pp: 83-104.
- Kung, S. D., A. James, T.C. Saunders, D. Tso, A. Vaughan, W. Madelyn, C. Staples, and G. R. Beecher. 1980. Tobacco as a potential food source and smoke material: Nutritional evaluation of tobacco leaf protein. *J. Food Science* 45:320-327.
- Latzko, E. and G.J Kelly. 1983. The many-faceted function of phosphoenolpyruvate carboxylase in C<sub>3</sub> plants. *Physiol. Veg.* 21: 805-815.
- Law, R. D. and W.C Plaxton. 1995. Regulation of the activity of phosphoenolpyruvate carboxylase isolated from germinating maize (*Zea mays* L.) seeds by some metabolites. *Biol. Plant.* 33: 66-74.
- Lehninger, A. L., D. L. Nelson and M. M. Cox. 1995. *Principios de Bioquímica.* Ediciones Omega, Barcelona.
- Laemli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.

- Loaiza Villegas, J. M. 1986. Crecimiento y aprovechamiento de la energía solar del maíz (*Zea mays* L.) en asociación con frijol (*Phaseolus vulgaris*L.). Tesis de Licenciatura, Fitotecnia, Universidad Autónoma de Chapingo, Edo. de México. p. 11-14.
  
- López, P. R., J.L. Arcos y A. Bernabe. 2007. Temas de ciencia y tecnología. Vol. 11 número 32. Pp. 23-31.
  
- Loomis, R.S. and W.A. Williams. 1969. Productivity and the morphology of crop stands: patterns and leaves. En Eastin JD, Haskins FA, Sullivan CY, van Bavel CHM (eds), Physiological aspects of crop yield. CSSA and Madison. pp 28-45
  
- Lorimer, G. H. and T.J. Andrews. 1981. The C<sub>2</sub> chemo-and photorespiratory carbon oxidation cycle. In: The Biochemistry of plants. Vol.8 Photosynthesis. Eds. M.D. Hatch and N.K. Boardman. Academic Press. New York. P.330-34.
  
- Loza Tavera H. 1992. Regulación de la expresión de los genes que codifican la ribulosa bisfosfato carboxilasa/oxigenasa durante el desarrollo de maíz. Tesis de Doctorado, Fac. Química, UNAM.
  
- Lucas, W. J. y M. A. Madore. 1988. Recent advances in sugar transport, *in* Carbohydrates (j. Preiss, ed.), Vol. 3of the Biochemistry of plants (P.K. Stumpf and E.E. cono, eds.), 35-84, Academic Press, New York.
  
- Manzano Luna, R. 2001. Patrón de acumulación de altura y biomasa, de la siembra al corte para ensilar en once variedades de maíz (*Zea mays*). Tesis de licenciatura, Zootecnia, Universidad Autónoma de Chapingo. Edo de México, p. 13-18.
  
- Makino, A., T. Mae and K. Ohira. 1986. Colorimetric measurement of protein stained with *Coomassie brilliant* blue R on Sodium Dodecyl sulfate-polycrylamide gel electrophoresis by eluting with formamide. Agric. Biol. Chem., 50(7), 1911-1912.

- Martínez Barajas, J.E. 1994. El papel de la Rubisco activasa en la regulación de la actividad de la Rubisco. Tesis de Doctorado, Fac. de Química, UNAM.
- Martínez Gutiérrez, R. 2007. Efecto de la citocinina BAP en la senescencia foliar de *Triticum aestivum* var. temporalera; fotosíntesis, Rubisco y transpiración. Tesis de Maestría, Botánica, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. p.97
- Martinoia, E. and D. Rentsch. 1994. Malate compartmentalization: Responses to a complex metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45: 447-467.
- Maynard, L. A., J. K. Loosli, H. F. Hintz and R. G. Warner. 1992. *Nutrición animal*. Cuarta edición en español. Editorial McGraw-Hill. México. p 640.
- Matsumura, H., M. Terada, S. Shirakata, T. Inoue, T. Yoshinaga, K. Izui and Y. Kai. 1999. Plausible phosphoenolpyruvate binding site revealed by 2.6 Å structure of Mn<sup>2+</sup> bound phosphoenolpyruvate carboxylase from *Escherichia coli*. *FEBS Lett.* 458 (2): 93-96.
- Mendiola Cabello, M. G. 2005. Acumulación de forraje de dos variedades de maíz en los primeros 100 días del silo de crecimiento. Tesis de licenciatura, Zootecnia, Universidad Autónoma de Chapingo, Edo. de México. p. 9-17.
- McDonal, P., R. A. Edwards y J. F. Greenhalgh. 1993. *Nutrición animal*. Cuarta edición en español. Editorial McGraw-Hill. México. p 640.
- Mc Ilroy, R.J. 1973. *Introducción al cultivo de pastos tropicales*. Editorial Limusa. México.
- Miller, S.S., K.L.M. Boylan, and C.P. Vance. 1989. Alfalfa root nodule CO<sub>2</sub> fixation. III. Immunological studies of nodule phosphoenolpyruvate carboxylase. *Plant Physiol.* 84: 501-508.

- Mimila Meneses, Jorge. 2003. Rebrote en teocintle (*Zea diploperennis* Iltis, Doebley, Guzmán & Pazy) cosechado a diferentes estados de crecimiento y severidad. Tesis profesional, Zootecnia, Universidad Autónoma de Chapingo. p.53
- Molina A., J. A. 1992. Efecto de tres ciclos de selección masal sobre características morfológicas y fisiológicas en la variedad criolla del maíz San Nicolás. Tesis profesional, Facultad de agronomía, UANL, Marín, N. L., México
- Morales Tovalín, A. 1996. Determinación de Rubisco y Rubisco activasa en diversos ciclos de selección en Maíz var. Zacatecas 58. Tesis de Maestría, Fisiología Vegetal; Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. de México. p.71
- Morales A., M.L. Ortega, J. Molina and E. Sánchez. 1999 Importance of Rubisco activase in maize productivity based on mass selection procedure
- Muslera, P. y G. Ratera. 1984. Praderas y forrajes. Ediciones Mundiprensa. Madrid, España. p 702.
- Naul, L.R., D.T. Gordon, V.D. Damsteegt and H.H. Iltis. 1982. Response of annual and perennial teosintes (*Zea*) to six maize viruses. *Plant Disease* 66: 61-62
- Naul, L.R. y W.R. Findley. 1982 “*Zea diploperennis*: A primitive offers new traits to improve corn”. *Desert Plants* 2: 203-205.
- Nelson, N. A. 1944. A photometric adaptation on the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry* 153:375-380.
- Nichols, J., P. Reece, G. Hergert and L. Moser. 1989. Yield and quality of fertilized subirrigated meadow hay. Beef cattle report. University of Nebraska-Lincoln. United States. p 17-21.

- O'leary, M.H. 1982. Phosphoenolpyruvate carboxylase: An enzymologist's view. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 33:297-315.
- Olson, R. A., y Sanders, D. H. 1988. Corn production. pp. 639-686. In *Corn and corn improvement*.
- Ortega I., E. E. Villegas, M. Bjarnason, and K. Short. 1991. Changes in dry matter and protein fraction during kernel development of quality protein maize. *Cereal Chem.* 63:446-451.
- Pajic Z., M. Babic and M. Rodosvljevic. 1992. Effect of environmental factors on changes in carbohydrate composition of sweet corn. *Genetika* **24**: 49-56.
- Pohl, R.W. y M.C. Albertsen. 1981. Interspecific hybrids of *Zea mays* and *zea diploperennis*. *Journal of Agricultural Research* 55: 257-259.
- Poey D., F.R. 1978. El mejoramiento integral de maíz: Valor nutritivo y rendimiento; hipótesis y métodos. Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 206 p.
- Poorter, H. y M. Bergkotte. 1992. La composición química de 24 especies silvestres diferentes en la tasa de crecimiento relativo. *Environ.* 15: 221-229.
- Prioul J. L., G. Cornic and H. G. Jones. 1984. Discussion of Stomatal and non-stomatal components in leaf photosynthesis; decline under stress. *Advances in Photosynthesis Research.* 4: 355-378.
- Prioul, J. L. and N. Schwebel-Dugué. 1992. Source-sink manipulations and carbohydrate metabolism in maize. *Crops Science* 32:751-756.



- Raya, J.C. y C. L. Aguirre. 2008. Aparición y evolución de la fotosíntesis C<sub>4</sub>. Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y el ambiente. Número 001, Universidad Autónoma Chapingo. p.45-50
- Ray, P.M. 1980. La planta viviente. 1a. Edición. Traducida por Dr. Raúl J Blaisten. Editorial CECSA, México. 272 p.
- Ray, T. B. and C.C. Black. 1979. The C<sub>4</sub> and Crassulacean acid metabolism pathways. The C<sub>4</sub> pathway and its regulation. In Photosynthesis II Vol. 6. Edited by Gibbs, M. and Latzko, E. Enciclopedia of plant physiology. Springer-Verlag. Pp 77-98.
- Reyes C.P. 1990. El maíz y su cultivo. AGT. Editors. D.F., México. p. 460
- Rincon C., A. Ligarreto, y E. Garay. 2008. Producción de forraje en los pastos *Brachiaria decumbens* cv. Amargo y *Brachiara brizantha* cv. Toledo, sometidos a tres frecuencias y a dos intensidades de defoliación en condiciones del pie de monte llanero colombiano. Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín, vol 61 no.1 Medellín Jan/june.
- Sada S. F. 1972. Efecto de algunas variables agronómicas sobre el rendimiento y su composición en el maíz forrajero. Tesis de licenciatura, Zootecnia, Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- Salinas Y., L. Arellano y F. Martínez. 1992. Propiedades físicas, químicas y correlaciones de maíces híbridos precoces para Valles Altos. Arch. Lat. Nutri. Guatemala, C.A, 42:161-162
- Sánchez J. y L. Ordaz. 1987. El teocintle en México: Distribución y situación actual de las poblaciones. International Board for plant Genetic Resources. Systematic and Ecogeographic Studies on Crop Genepools No. 2, 50 p.

- Sánchez Velásquez, L.R. 1991. *Zea diploperennis*: mejoramiento genético del maíz, ecología y la conservación de recursos naturales. *Tiempos de ciencia* 24:1-8
- Sánchez L. R., M.A. Solís, E. Cortez, R. Jiménez, M. Rosales y A. Cárdenas. 1992. Efecto del cultivo tradicional del maíz sobre el crecimiento y desarrollo de *Zea diploperennis*. *Biotam*, 3: 51-58.
- Saftner R.A. and R. E. Wyse. 1984. Effect of plant hormones on sucrose uptake by sugar beet root tissue disc. *Plant Physiolo.* 83:143-148.
- Schubert, K. R. 1986. Products of biological N<sub>2</sub> fixation in the higher plants: Synthesis, transport and metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37: 537-574.
- Sector J., D. R. McCarty, R. Shibbes and D. E. Green. 1982. Variability and selection for leaf photosynthesis in advanced generation of soybean. *Crop Sci.* 22:255-258.
- Sinclair T.R. and T. Horie. 1989. Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: a review. *Crop Sci.*, 29: 90-98.
- Smith, D. 1972. Total nonstructural carbohydrate concentration in the herbage of several legumes and grasses of first flowers. *Agron. J.* 64:705-706.
- Spreitzer R. J. and M.E. Salvucci. 2002. Rubisco: structure, regulatory interactions and possibilities for a better enzyme. *Annual Review of Plant Biology* 53: 449-475.
- Stoy, V. 1975. Use of tracer techniques to study yield components in seed. In: *Crop tracer techniques for plant breeding. Panel Proceedings Sries. Vienna, Australia.*
- Sugiharto, B., K. Mitaya, H. Nakamoto, H. Sasakawa and T. Sugiyama (1990). Regulation of expression of carbon-assimilating enzymes by nitrogen in maize leaf. *Plant Physiology* 92:963-969.

- Tanaka, A. y J. Yamaguchi. 1972. Producción de materia seca, componentes del rendimiento y rendimiento del grano en maíz. Traducido por J. Kohashi. Centro de Botánica, Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- Tarczynski M.C. and W.H. Outlaw. 1993. The interactive effects of pH, L-malate and glucose-g-phosphate on guard cell phosphoenolpyruvate carboxylase. *Plant Physiol.* 103: 1189-1194.
- Thomas H. and J. L Stoddart. 1980. Senescence foliar. *Annual Review of Plant Physiology* 31:83-111.
- Ting, I.P 1985. Crassulacean acid metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 36: 595-622.
- Tollenaar M. 1977. Sink-source relationships during reproductive development in maize. A review. *Maydica* 22:49-75.
- Tollenaar, M. and T.B. Daynard. 1978. Leaf senescence in short-season maize hybrids. *Can. J. Plant Sci.* 58:869–874.
- Van Soets J.J. 1994. Nitrogen metabolism. *Nutritional Ecology of the ruminant*. Ithaca, New York: Cornell. Seg. Ed. 476 p.
- Vargas Martínez, B. 2004. Análisis de crecimiento, rendimiento y Flavonoides del maíz (*Zea mays* L.), Tesis de Maestría, Bótica, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo de México. p.42-67
- Varlet Gancher C. 1982. Analyse du rendement de la conversion de l'énergie solaire par un couvert végétal. These Dr. Etat, Orsay, N° 2593, 144 p.
- White L. M. 1973. Carbohydrate reserves in grasses: a review. *Journal Of Range Manage.* 26:13-18.

- Wilkes G. 1977a. Hybridization of maize and teosinte in México and Guatemala and Improvement of maize. *Economic Botany* 31:254-293.
- Wilkes G. 1993b. El teocintle en México como modelo para la conservación *in situ*: un reto. En: *Biología, ecología y conservación del género Zea*. Benz, B.F. (Compilador) Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco. p: 257-270.
- Willey R.W. y S. B. Heath. 1969. The quantitative relationships between plant population and crop. *Advances in Agronomy*, 21:281-321.
- Wolfe D.W., D.W. Henderson, T.C Hsiao and A. Alvino. 1988. Interactive water and nitrogen effects on senescence of maize. I. Leaf area duration, nitrogen distribution, and yield. *Agronomy Journal*. 80:859-864.
- Wolstenholme, B. N. 1990. Resource allocation and vegetative-reproductive competition: opportunities for manipulation in evergreen fruit trees. *Acta Hort*. 275: 451-459.
- Yoshida, S. 1972. Physiological aspects of grain yield. *Ann Rev of Plant Physiology* 23:437-464.