

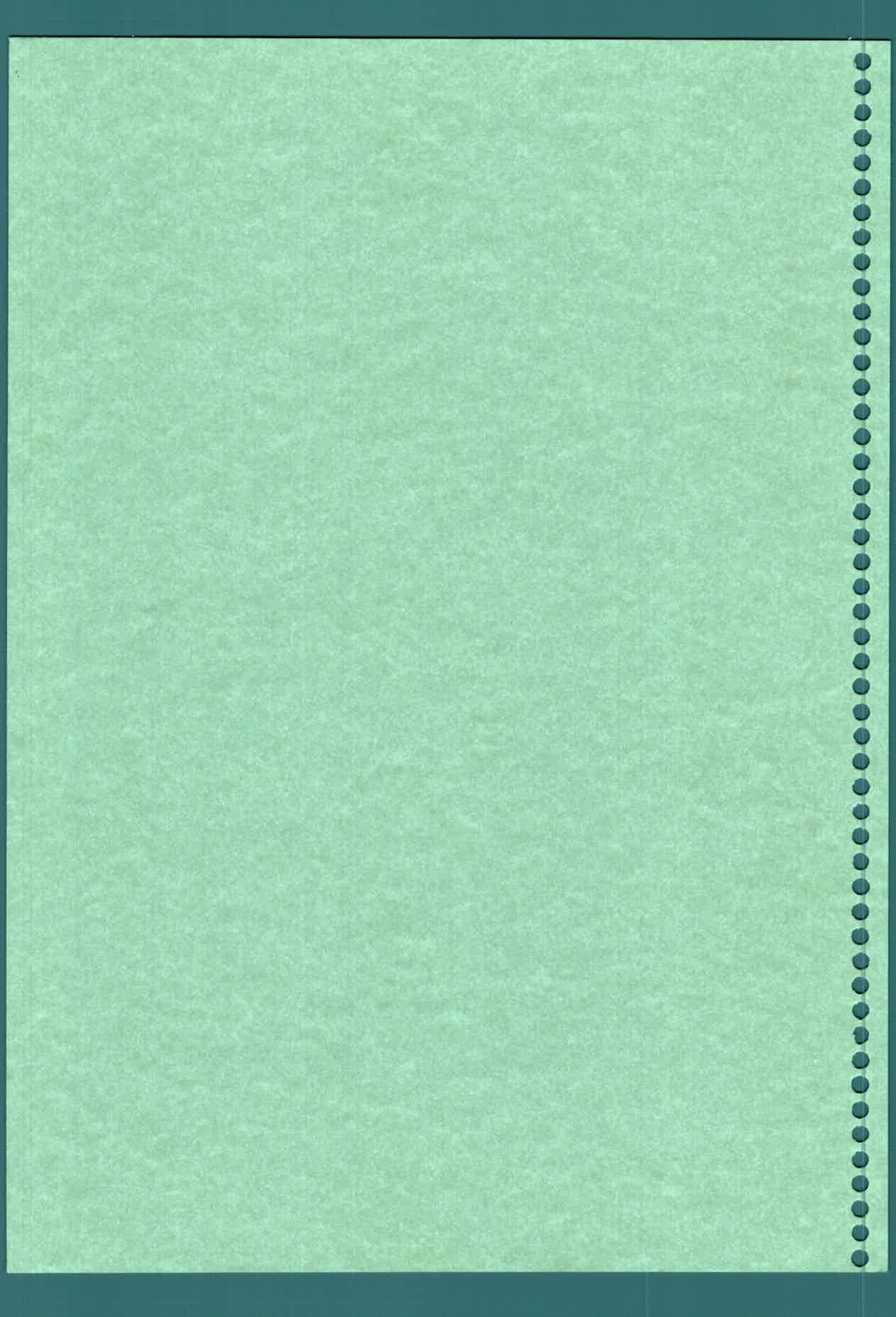
UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICO-QUÍMICAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS NATURALES
LABORATORIO DE FISIOLÓGÍA VEGETAL



“Jasmonatos como mensajeros de la explicitación del
proceso de tuberización en *Solanum tuberosum* L.”

Lic. Ana María Cenzano

Directora Dra. Guillermina Abdala





CENZANO, A.M.
Jasmonatos como Mens

59904

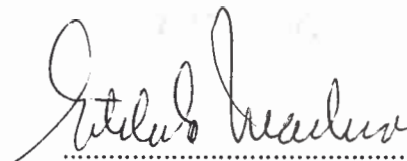
2004

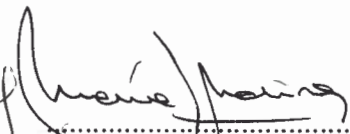
59904


El presente trabajo fue realizado en el Departamento de Ciencias Naturales de la Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, y se presenta como requerimiento para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Río Cuarto.

Directora: **Dra. Guillermina Abdala**

Aprobado por el Tribunal de Tesis:


.....
Dra. Estela E. Machado


.....
Dra. María Inés Medina


.....
M.Sc. Roberto W. Racca

1000

59904

APN:
Classif.:
4348

DATE A VOLAR

Anda, date a volar, hazte una abeja,
En el jardín florecen amapolas,
Y el néctar fino colma las corolas;
Mañana el alma tuya estará vieja.

Anda, suelta a volar, hazte paloma,
Recorre el bosque y picotea granos,
Come migajas en distintas manos,
La pulpa muerde de fragante poma.

Anda, date a volar, sé golondrina,
Busca la playa de los soles de oro,
Gusta la primavera y su tesoro,
La primavera es única y divina.

Corre, camina más, es poco aquello...
Aún quedan cosas que tu mano anhela,
Corre, camina, gira, sube y vuela:
Gústalo todo porque todo es bello.

Extracto de la poesía "Date a Volar"
Alfonsina Storni

Anda, date a volar...



4/3

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Guillermina Abdala por su valioso conocimiento científico, por contribuir a mi formación profesional, por guiarme durante la realización de este trabajo de tesis, por brindarme su incondicional apoyo en situaciones académicas y personales, por la confianza depositada en mí; pero por sobre todo por su constante fuerza y valoración de mi desempeño.

A los miembros de la Comisión Asesora de Tesis: Dra. Estela E. Machado, Dra. María I. Medina y M. Sc. Roberto W. Racca por el aporte de valiosos conocimientos y sugerencias durante las presentaciones de los informes de avances y durante la corrección del borrador de tesis.

A CONICOR y CONICET por el otorgamiento de las Becas.

A la Universidad Nacional de Río Cuarto por el marco académico e institucional.

A la Escuela de Postgraduación de la Facultad de Cs. Exactas, Fco-Qcas y Naturales y de la Universidad por facilitar los trámites requeridos para complementar esta carrera.

A la Dra. Kelly Racagni por enseñarme la técnica de extracción, identificación y cuantificación de fosfolípidos, por responder mis inquietudes, y por permitirme junto a su grupo de investigación realizar las determinaciones.

A la Dra. Tere Kraus por su aporte científico y metodológico de mis resultados morfológicos y por sus consejos.

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that proper record-keeping is essential for the integrity of the financial system and for the ability to detect and prevent fraud. The text notes that records should be kept for a minimum of seven years and should be accessible to authorized personnel at all times.

2. The second part of the document outlines the specific requirements for record-keeping. It states that all transactions must be recorded in a clear and concise manner, using a standardized format. This includes recording the date, amount, and description of each transaction. The text also requires that records be kept in a secure and protected environment, with access restricted to authorized personnel only.

3. The third part of the document discusses the role of internal controls in ensuring the accuracy and reliability of financial records. It notes that internal controls should be designed to prevent and detect errors and fraud, and should be regularly reviewed and updated. The text also emphasizes the importance of segregation of duties and the use of independent audits to verify the accuracy of the records.

4. The fourth part of the document discusses the consequences of non-compliance with record-keeping requirements. It states that failure to maintain accurate records can result in financial loss, reputational damage, and legal action. The text also notes that non-compliance can lead to the suspension of the individual or organization responsible for the records.

5. The fifth part of the document discusses the importance of training and education in ensuring compliance with record-keeping requirements. It notes that all personnel involved in the financial system should receive regular training and education on the importance of record-keeping and the specific requirements. The text also emphasizes the need for ongoing monitoring and evaluation of the record-keeping process to ensure continued compliance.

A la Dra. Mary Tordable por colaborar con las tinciones de almidón y por su aporte.

A Ana Vigliocco por colaborar en la cuantificación de los jasmonatos, y junto a Andrea Andrade por brindarme su confianza, apoyo y por compartir tardes de mates y charlas extensas.

A Miriam Ferrero por compartir largas cosechas de papas en el invernáculo y horas de extracción de fosfolípidos, por ser muy meticulosa en su trabajo y por su amistad.

A los restantes integrantes del laboratorio por el compañerismo y el afecto recibido.

Al personal docente y no docente del Departamento de Ciencias Naturales y de Biología Molecular que permitieron de alguna u otra manera realizar este trabajo.

A Rosana Garnica por facilitarme el uso del baño de incubación en situaciones imprevistas y permitirme trabajar con tranquilidad en el lab.

A Eduardo Franzoni y Eduardo Fatore por colaborar con la siembra, riego y cosecha de las papas.

A mis compañeros de cursos y seminarios de postgrado, a mis colegas docentes por compartir el dictado de materias de Fisio, por brindarme gratos recuerdos.

A mis amigas de Facultad Caro Marty, Tania Taurián y Laura Hildmann que siguieron paso a paso esta carrera, compartieron muchas alegrías y alentaron bajones.

Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page. The text is too light to transcribe accurately.

A mi familia, en especial a mi mamá: Gracias mami por estar siempre, por apoyarme en todo!

A mis hermanos, en particular a Euge, por cuidar a Igna mientras yo estudiaba. A ellos por compartir mi estudio y mis logros.

A mi papá y abuela, que desde chiquita hicieron nacer en mí el gusto por el estudio y trabajo, por inculcarme responsabilidad; a ellos que desde el cielo y junto a Dios me protegieron y dieron fuerza.

A Oscar por su constante apoyo y paciencia, por su amor incondicional, por compartir momentos de gran satisfacción personal y por alentarme en momentos difíciles.

A mi hijo Ignacio que con su hermosa sonrisa y "salidas" me llena de alegría haciéndome cada día más feliz.

A todos los que en algún lugar y momento se cruzaron por mi camino.

GRACIAS !!

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions.

2. It is essential to ensure that all entries are supported by appropriate documentation and receipts.

3. Regular audits should be conducted to verify the accuracy of the records and identify any discrepancies.

4. The second part of the document outlines the procedures for handling any irregularities or discrepancies.

5. It is important to investigate any irregularities promptly and take appropriate corrective action.

6. The final part of the document provides a summary of the key points and conclusions.

7. It is recommended that these procedures be followed consistently to ensure the integrity of the records.

8. The document concludes with a statement of approval and a signature line.

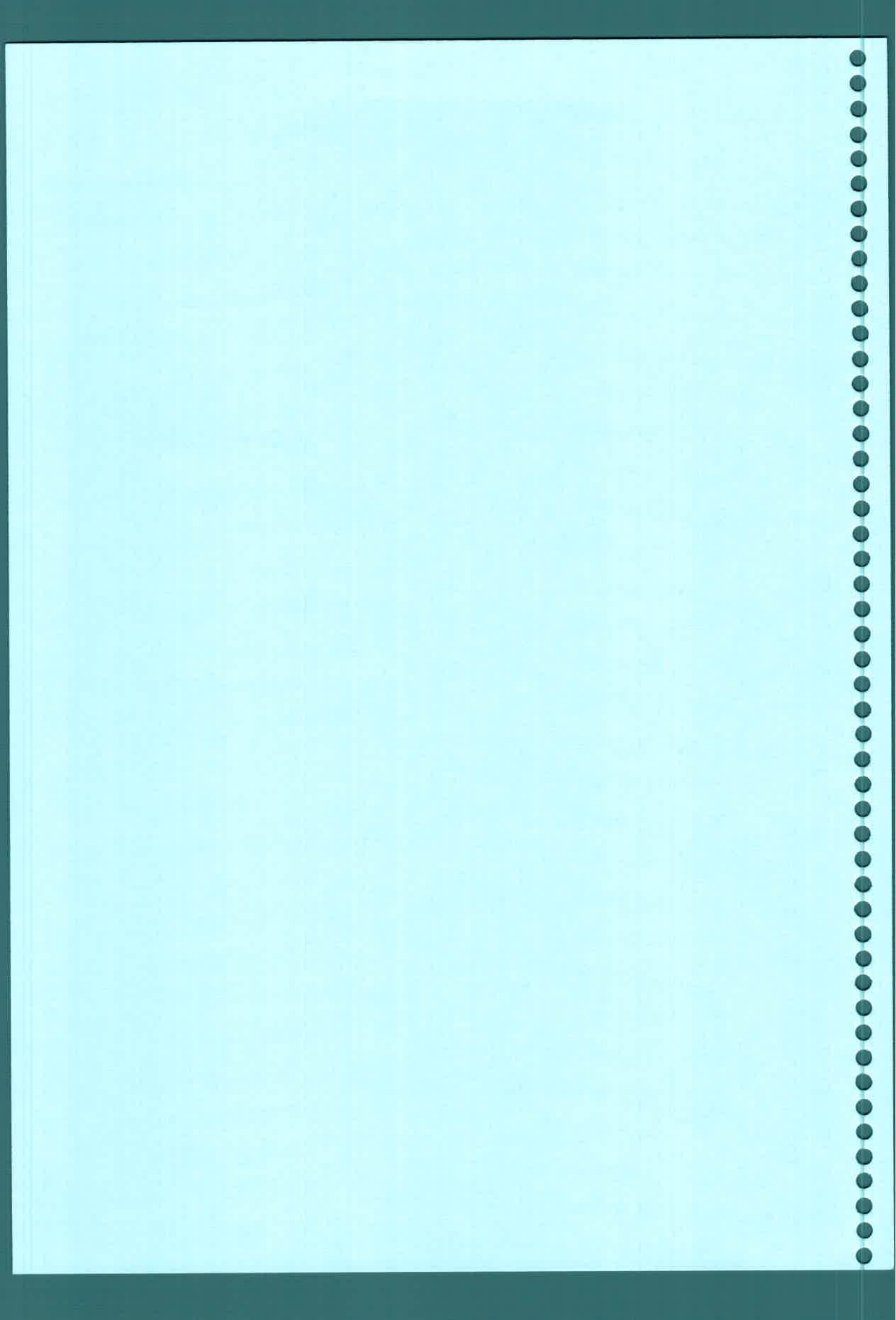
9. The following table provides a detailed breakdown of the data presented in the report.

10. The data shows a significant increase in revenue over the period covered by the report.

11. This increase is attributed to a combination of factors, including improved sales and cost management.

12. The report also identifies areas for further improvement and provides recommendations for future action.

13. The document is prepared in accordance with the requirements of the relevant regulations and standards.



RESUMEN

Cambios morfológicos producidos en las primeras etapas de la tuberización van acompañados de profundas modificaciones metabólicas. El glucósido del ácido tuberónico, glucósido de 12-hidroxi-ácido jasmónico, fue el primer compuesto propuesto como inductor de tuberización. Ácido jasmónico y su éster metílico, conocidos como jasmonatos promueven la tuberización en papa a través de la expansión celular, determinada por cambios en la reorientación de los microtúbulos. El efecto de ácido jasmónico sobre la tuberización estaría mediado por cambios en los fosfolípidos, compuestos estructurales de las membranas celulares y fuente rica para la generación de reguladores celulares y la transducción de diferentes señales.

En este trabajo se establecieron correlaciones entre niveles endógenos de jasmonatos, contenido de fósforo de la fracción fosfolipídica, patrón de lípidos estructurales y de aquellos considerados señales, durante la formación de tubérculos de *Solanum tuberosum* L. cv. Spunta. Además, se analizó el efecto de ácido jasmónico exógeno sobre la morfo-histología, contenido de fósforo y fosfolípidos en los primeros estadios de tuberización.

Entre los miembros de la familia de jasmonatos se identificó ácido jasmónico, metil jasmónico, los hidroxilados 11-hidroxi-ácido jasmónico y 12-hidroxi-ácido jasmónico, el precursor de ácido jasmónico, el ácido 12-*oxo*-fitodienoico, y también el ácido jasmónico conjugado con isoleucina.

Por vez primera se identificó y cuantificó 11-hidroxi-ácido jasmónico y 12-hidroxi-ácido en estolones y tubérculos. En los tres primeros estadios ontogénicos el contenido de 12-hidroxi-ácido jasmónico fue mayor que el de 11-hidroxi-ácido jasmónico, tanto en ápice como en estolón. La forma 11-hidroxi-ácido jasmónico se incrementó en ápice, mientras que 12-hidroxi-ácido jasmónico y ácido jasmónico disminuyeron con la ontogenia. Los estolones modificaron únicamente el contenido de 11-hidroxi-ácido jasmónico con la ontogenia.

El mantenimiento de un elevado nivel de ácido jasmónico y 12-hidroxi-ácido jasmónico en estolones conjuntamente con un decrecimiento en ápices sugiere que la hidroxilación, utilización y/o metabolismo de jasmonatos ocurriría en ápices; así, los estolones podrían actuar como vías de suministro de estos compuestos a la región

THE HISTORY OF THE UNITED STATES

CHAPTER I. THE DISCOVERY OF AMERICA.

THE first discovery of America was made by Christopher Columbus in 1492.

He sailed from Spain on the 3rd of September, and after a long and dangerous voyage, he discovered the continent of America on the 12th of October.

At that time, the only people who lived in America were the Indians.

They were a brave and warlike people, and they lived in small villages.

They were very fond of gold and silver, and they had many gold and silver ornaments.

They also had many beautiful feathers, and they wore them on their heads.

They were very kind to the Spaniards, and they showed them many things that they had never seen before.

But the Spaniards were very greedy, and they wanted to have all the gold and silver.

So they took the Indians to Spain, and they made them work for them.

The Indians were very unhappy, and they died many of them.

But the Spaniards did not care, and they continued to take more and more Indians.

At last, the Indians were so few that the Spaniards could not find any more.

So they had to go to other parts of America, and they found many more Indians.

But they were still very greedy, and they wanted to have all the gold and silver.

So they continued to take the Indians, and they made them work for them.

The Indians were very unhappy, and they died many of them.

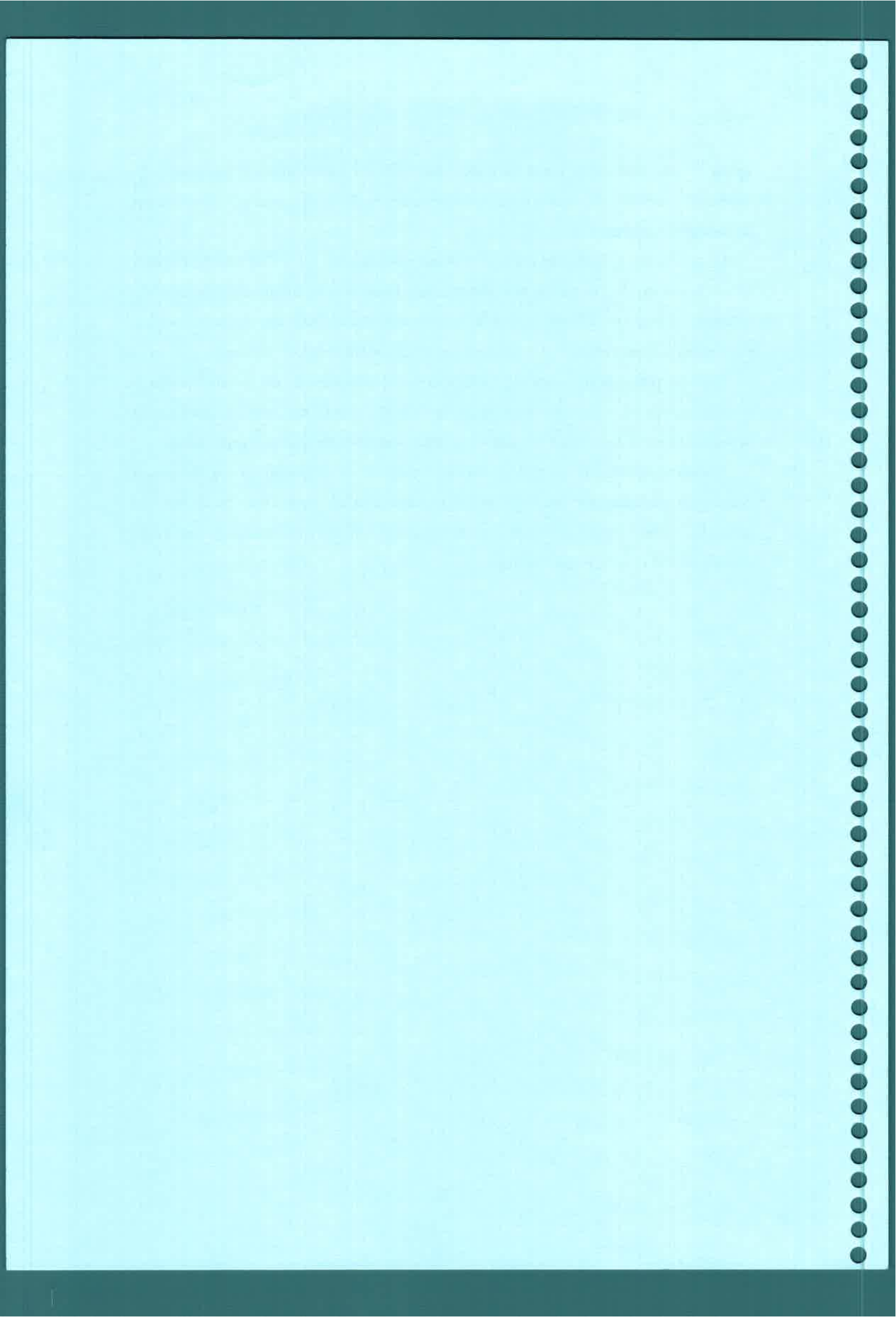
But the Spaniards did not care, and they continued to take more and more Indians.

apical. Ácido jasmónico y sus derivados hidroxilados estimularían la formación de tubérculo mediante expansión celular, engrosamiento de meristemas y diferenciación de tejidos vasculares.

La aplicación exógena de ácido jasmónico a tejidos del 1er y 2do estadio produjo ensanchamiento de los meristemas subapicales, reducción de longitud de primordios foliares, y temprana diferenciación de tejidos vasculares. Además, ácido jasmónico incrementó el área celular 4 y 6 veces en 1er y 2do estadio respectivamente.

Por otra parte, ácido jasmónico exógeno causó disminución de fosfatidilserina y fosfatidilcolina en el 1er estadio, y aumento de ácido fosfático en el 2do estadio; no se registraron variaciones en los niveles de los restantes fosfolípidos identificados.

Nuestros resultados permiten concluir que la tuberización como respuesta fisiológica mediada por jasmonatos involucraría a ácido fosfático como un 2do mensajero determinante del cambio en la disposición de los microtúbulos conducente a la expansión celular isodiamétrica.



ABSTRACT

Morphological changes produced during early tuberization stages are accompanied by profound metabolic modifications. The aglycon of tuberonic acid, 12-hydroxy-jasmonic acid glucoside, was the compound proposed as tuber inducing. Jasmonic acid and its methyl ester, known as jasmonates, promote tuberization in potato through cell expansion, determined by changes in the microtubule orientation.

The effect of jasmonic acid on tuber formation may be mediated by phospholipid modifications. These phospholipids are compounds that form part of the membrana structure and rich source for the generation of cell regulators and the transduction of different signals.

In the present we studied the correlation among endogenous jasmonate levels, phosphorous content in the phospholipidic fraction, patterns of structural lipids and those considered signals during tuber fomatation of *Solanum tuberosum* L. cv. Spunta.

Likewise, the effect of exogenous jasmonic acid on the morpho-histology, phosphorous and phospholipid content during the early stages of tuberization were also analyzed.

Among the jasmonate family members we identified jasmonic acid, methyl jasmonic, 11-hydroxy-jasmonate, 12-hydroxy-jasmonate, the precursor 12-oxo-phytodienoic acid, and jasmonic acid conjugated with isoleucine. The forms 11-hydroxy and 12-hydroxy-jasmonate were identified and quantified for the first time in stolons and tubers.

In the early ontogenetic stages (1st, 2nd and 3rd stages) the content of 12-hydroxy-jasmonic acid was higher than 11-hydroxy-jasmonic acid in the apical region and stolon. The 11-hydroxylate increased in the apical regions, while 12-hydroxylate and jasmonic acid decreased in the course of the ontogeny. The stolons only modified the 11-hydroxylate content with the ontogeny.

The maintenance of a high level of jasmonic acid and 12-hydroxylate in stolons concomitant with the decrease in the apical region suggest that jasmonate hydroxylation, utilization and/or metabolism occur in apical region; thus, stolons could act as supplier pathways of these compounds to the apical region.

Jasmonic acid and its hydroxylate derivates stimulate tuber formation by cell expansion, enlargement of meristems and vascular tissue differentiation.

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. This is essential for ensuring the integrity of the financial statements and for providing a clear audit trail.

2. The second part of the document outlines the various methods used to collect and analyze data. These methods include direct observation, interviews, and the use of specialized software tools.

3. The third part of the document describes the results of the data collection and analysis. It shows that there is a significant correlation between the variables being studied, which supports the hypothesis.

4. The fourth part of the document discusses the implications of the findings. It suggests that the results have important implications for the field of study and for future research.

5. The fifth part of the document provides a conclusion and summarizes the key findings. It also includes a list of references and a list of figures and tables.

6. The sixth part of the document contains a list of references. These references include books, articles, and other sources that have been consulted during the research process.

7. The seventh part of the document contains a list of figures and tables. These figures and tables provide a visual representation of the data and are essential for understanding the results of the study.

8. The eighth part of the document contains a list of appendices. These appendices provide additional information that is not included in the main body of the document.

9. The ninth part of the document contains a list of acknowledgments. These acknowledgments thank the individuals and organizations that have provided support and assistance during the research process.

10. The tenth part of the document contains a list of footnotes. These footnotes provide additional information and references that are not included in the main body of the document.

The jasmonic acid application to tissues of the first and second stage caused enlargement of subapical meristems, leaf primordium modifications and early vascular tissue differentiation. Likewise, jasmonic acid increased the cell area 4 and 6 fold in the first and second stages respectively.

Likewise, exogenous jasmonic acid produced a decrease of phosphatidylserine and phosphatidylcholine in the first stage, and an increase of phosphatidic acid in the second stage. No variation in the level of others phospholipids was recorded.

Our results allow us to conclude that tuberization as a physiological response mediated by jasmonates could involve phosphatidic acid as a second messenger determinant of the change in microtubule orientation to produce isodiametric cell expansion.

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. This is essential for ensuring the integrity of the financial statements and for providing a clear audit trail. The records should be kept up-to-date and should be easily accessible to all relevant parties.

2. The second part of the document outlines the procedures for the monthly financial review. This involves a thorough examination of the accounts and a comparison of the actual results with the budgeted figures. Any variances should be identified and explained, and appropriate corrective actions should be taken.

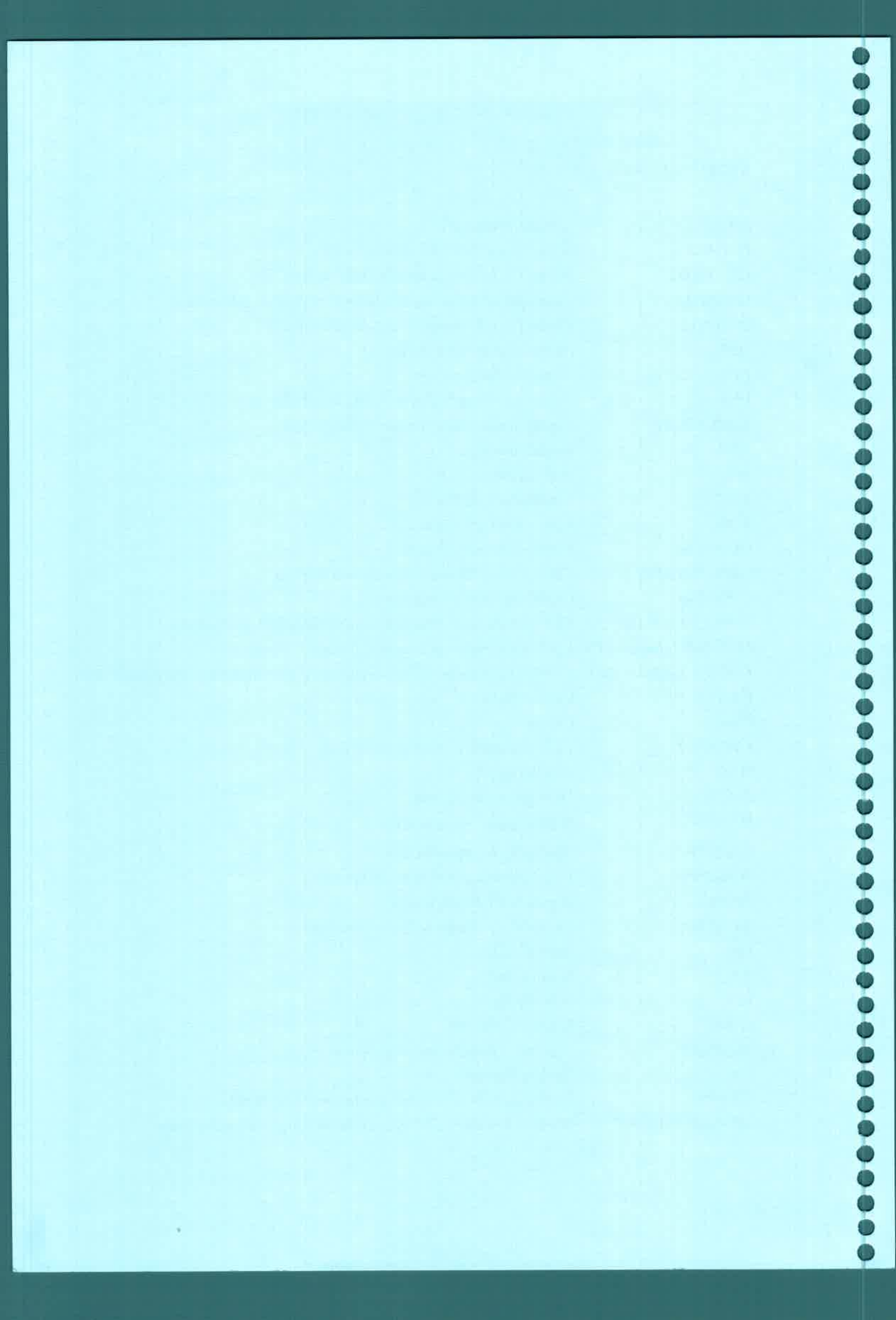
3. The third part of the document describes the process of preparing the quarterly financial statements. This includes the consolidation of the data from all departments and the preparation of the income statement, balance sheet, and cash flow statement. The statements should be reviewed and approved by the appropriate authority before being issued.

4. The fourth part of the document discusses the importance of regular communication and reporting. This involves providing timely and accurate information to the management and the board of directors. This is essential for enabling them to make informed decisions and to monitor the performance of the organization.

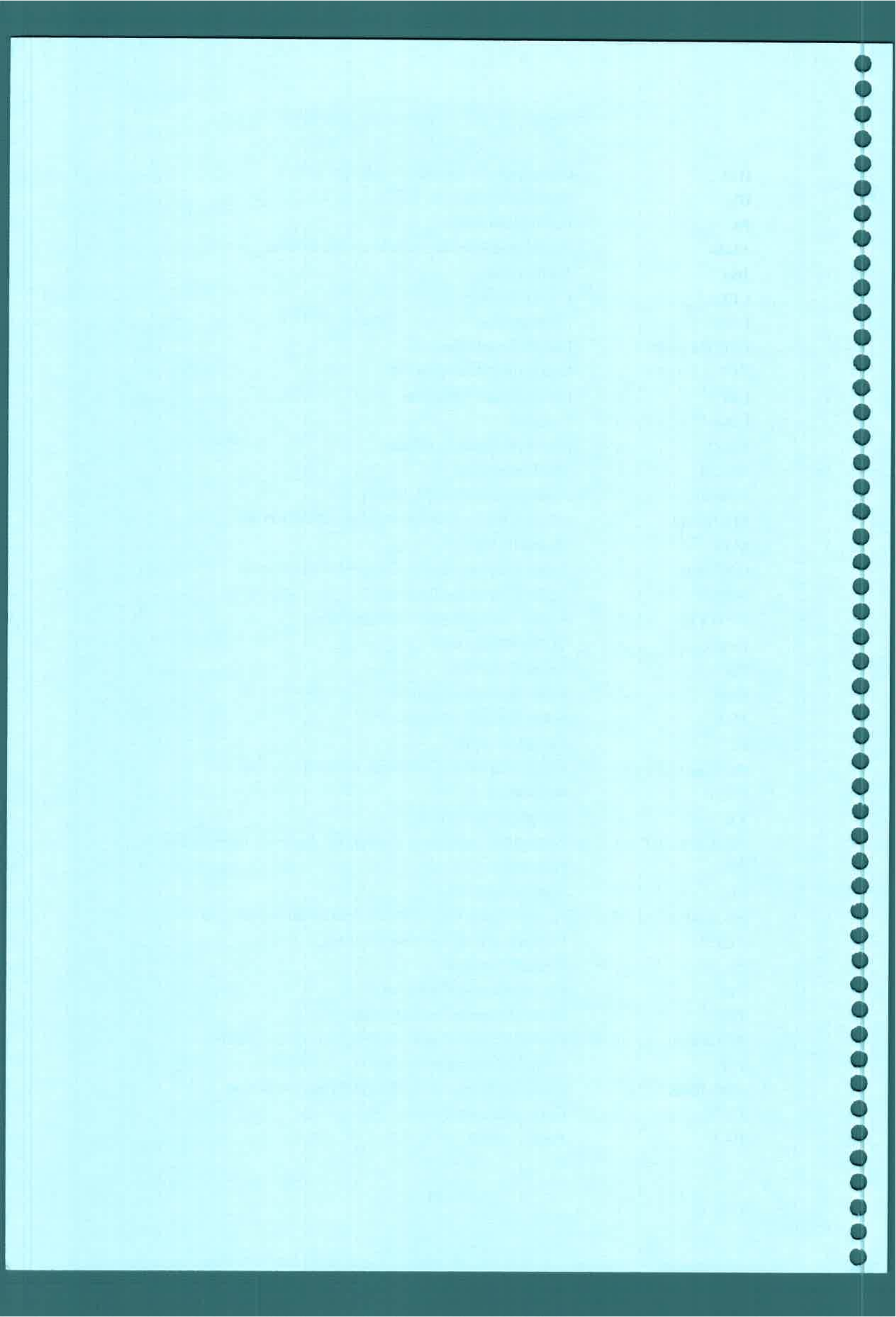
5. The fifth part of the document outlines the procedures for the annual financial audit. This involves the engagement of an independent auditor to examine the financial statements and to provide an opinion on their accuracy and fairness. The audit should be conducted in a timely and efficient manner, and the findings should be reported to the board of directors.

ABREVIATURAS

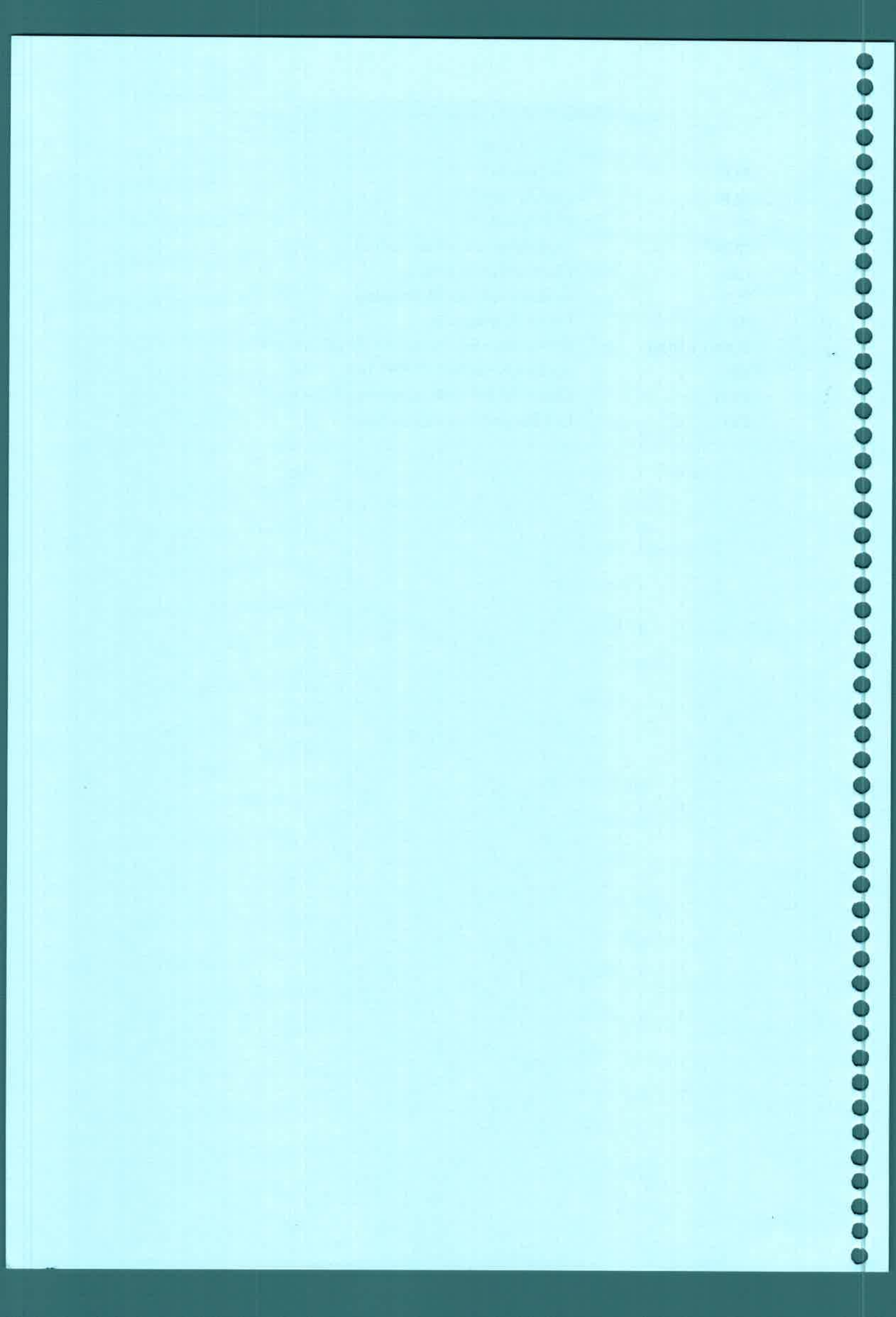
α -LA	α -ácido linolénico
11-OH-JA	Ácido jasmónico hidroxilado en C11
12, 13 EOT	Ácido 12, 13-epoxi-octadecatrienoico
12-OH-JA	Ácido jasmónico hidroxilado en C12 ó ácido tuberónico
13-HPOT	Ácido 13-hidroperóxido-octadecatrienoico
16:3	Ácido hexadecatrienoico
18:2	Ácido linoleico
18:3	Ácido octadecatrienoico- Ácido linolénico
<i>1-AG-3-P-AT</i>	<i>1-acilglicerol-3-fosfato- acil transferasa</i>
ABA	Ácido abscísico
AH	<i>Acil hidrolasa</i>
AOC	<i>Óxido de aleno ciclasa</i>
AOS	<i>Óxido de aleno sintasa</i>
CDP- Cho	Citidil difosfato- Colina
<i>CDP- DAG PT</i>	<i>CDP- Diacilglicerol fosfatidil transferasa</i>
CDP- Etn	Citidil difosfato- Etanolamina
<i>CDP-C: 1,2-DAG CPT</i>	<i>CDP-colina: 1,2- Diacilglicerol colina fosfo transferasa</i>
<i>CDP-DAG: inositol PT</i>	<i>CDP- Diacilglicerol: inositol fosfatidil transferasa</i>
<i>CDP-E: 1,2-DAG EPT</i>	<i>CDP-etanolamina: 1,2- Diacilglicerol etanolamina fosfo transferasa</i>
CL	Cardiolipina
Cho	Colina
<i>CTP: PCT</i>	<i>CTP: fosfatidato citidil transferasa</i>
DAG	Diacilglicerol
<i>DAGK</i>	<i>Diacilglicerol quinasa</i>
DAG-PP	Diacilglicerol pirofosfatasa
DAG-PP	Diacilglicerol pirofosfato
<i>DAG-PPP</i>	<i>Diacilglicerol pirofosfato fosfatasa</i>
DGDG	Digalactosil diacilglicerol
dn OPDA	dinor-OPDA ó dinor-Ácido octadecanoico
Etn	Etanolamina
FA	Ácido graso
FLs	Fosfolípidos
G-3-P	Glicerol 3-fosfato
<i>G-3-P-AT</i>	<i>Glicerol 3-fosfato-acil transferasa</i>
GA	Ácido giberélico
GC-MS	Cromatografía Gaseosa-Espectrometría de Masa
<i>GP:CDP-DAG PT</i>	<i>Glicerol fosfato: CDP- Diacilglicerol fosfatidil transferasa</i>



HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Presión
IP₃	Inositol trifosfato
JA	Ácido jasmónico
JA-Ile	Ácido jasmónico conjugado con isoleucina
JAs	Jasmonatos
LPLs	Lisofosfolípidos
LOX	<i>Lipoxigenasa</i>
LPC ó LisoPC	Lisofosfatidilcolina
LPE ó LisoPE	Lisofosfatidiletanolamina
LPP	Lípido fosfato fosfatasa
L-Ser	L-Serina
MAC	Meristema apical caulinar
Me-JA	Metil jasmónico
MGDG	Monogalactosil diacilglicerol
MGDG-O	(12- <i>oxo</i> -fitodienoil)-monogalactosildiglicérido
MTs	Microtúbulos
OPC-8:0	Ácido 3- <i>oxo</i> -pentenilo-ciclopentano-octanoico
OPDA	Ácido 12- <i>oxo</i> -fitodienoico
OPDAMe	Ácido 12- <i>oxo</i> -fitodienoico metilado
OPRs	OPDA reductasas
PA	Ácido fosfatídico
PAK	<i>Ácido fosfatídico quinasa</i>
PAP	<i>Ácido fosfatídico fosfatasa</i>
PC	Fosfatidilcolina
PC:L-ser-3PT	<i>Fosfatidilcolina: L-serina 3- fosfatidil transferasa</i>
P-Co	Fosfocolina
PE	Fosfatidiletanolamina
PE:L-ser-3PT	<i>Fosfatidiletanolamina: L-serina 3- fosfatidil transferasa</i>
PF	Peso fresco
PG	Fosfatidilglicerol
PG:CDP-DAG PT	<i>Fosfatidilglicerol :CDP-DAG fosfatidil transferasa</i>
PGPP	<i>Fosfatidilglicerol fosfato fosfatasa</i>
PI	Fosfatidilinositol
PIK	<i>Fosfatidilinositol quinasa</i>
PIP	Fosfatidilinositol monofosfato
PIP PME	<i>Fosfatidilinositol monofosfato fosfo mono esterasa</i>
PIP₂	Fosfatidilinositol bisfosfato
PIP₂ PME	<i>Fosfatidilinositol bisfosfato fosfo mono esterasa</i>
PIPK	<i>Fosfatidilinositol monofosfato quinasa</i>
PLA	<i>Fosfolipasa A</i>



PLC	<i>Fosfolipasa C</i>
PLD	<i>Fosfolipasa D</i>
PS	Fosfatidilserina
PSDC	<i>Fosfatidilserina decarboxilasa</i>
PSS	<i>Fosfatidilserina sintasa</i>
PUFAs	Ácidos grasos poliinsaturados
Rf	Frente de referencia
SQDG ó SQD	Sulfoquinovosil diacilglicerol ó sulfoquinovosa
TA	Ácido tuberónico o 12-OH-JA
TAG	Glucósido del ácido tuberónico o 12-OH-JA
TLC	Cromatografía en capa delgada



ÍNDICE GENERAL

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. ¿Porqué estudiar tubérculos de papa?	1
1.1. Origen e historia	1
1.2. Distribución geográfica y zonas de producción	2
1.3. Clasificación botánica	2
1.4. Un tubérculo es un tallo modificado	3
2. Proceso de tuberización	3
2.1. Factores involucrados en la formación del tubérculo	5
2.2. Cambios metabólicos durante la transición estolón-tubérculo	7
3. La morfogénesis en el desarrollo de la planta	8
3.1. Meristemas: sitios de división y expansión celular	9
4. Jasmonatos en diferentes eventos de señalización	10
4.1. Ocurrencia de jasmonatos	12
4.2. Biosíntesis de jasmonatos	15
4.2.1. Membranas fosfolipídicas: fuentes de JAs	17
4.3. Participación de JAs en la tuberización de papa	21
4.3.1. Mecanismos de inducción de tuberización mediados por JAs	22
4.3.2. JAs endógenos encontrados en papa	23
4.4. Jasmonatos y octadecanoicos en otros procesos de desarrollo	24
5. Señales de transducción: mediadoras de diferentes respuestas celulares	25
5.1. Síntesis de glicerolípidos en plantas	26
5.2. Biosíntesis de fosfolípidos	28
5.3. Composición lipídica de las membranas celulares	29
5.4. Ocurrencia de fosfolípidos en tubérculos de papa	31
5.5. Fosfolípidos como mediadores de procesos celulares	31
5.6. Fosfolipasas	32
5.6.1. Participación de fosfolipasas y productos de ellas en diversas funciones celulares	34
5.6.2. Eventos de transducción de señal durante el daño mecánico	37
HIPÓTESIS y OBJETIVOS	40
RESULTADOS	41
1. Contenido endógeno de jasmonatos	41



2. Proteínas totales en estadíos controles	48
3. Fósforo total de la fracción fosfolipídica en estadíos controles	48
4. Patrón fosfolipídico de estadíos controles	49
4.1. Identificación de fosfolípidos	49
4.2. Cuantificación de fósforo presente en fosfolípidos	50
5. Efecto de JA sobre el contenido de fósforo total de la fracción fosfolipídica y sobre el patrón fosfolipídico del 1er y 2do estadío	51
5.1. Efecto de la estimulación con JA sobre el contenido de fósforo total de la fracción fosfolipídica	51
5.2. Efecto de JA sobre el patrón fosfolipídico	52
5.3. Efecto de JA sobre el contenido de fósforo presente en las diferentes especies fosfolipídicas	54
5.4. Efecto de JA sobre el contenido de fósforo presente en fosfoinosítidos	57
6. Morfología e histología del meristema apical y subapical del estolón	59
7. Efecto de JA exógeno sobre la morfología e histología del meristema apical-subapical del estolón	61
8. Efecto de JA exógeno a nivel celular	63
9. Visualización de granos de almidón	67
DISCUSIÓN	70
Esquema integrador	77
MATERIALES Y MÉTODOS	78
1. Material vegetal	78
2. Contenido endógeno de jasmonatos	79
2.1. Extracción, purificación y estimación de jasmonatos	79
2.2. Cromatografía líquida de alta presión (HPLC)	80
2.3. Derivatización para JA, OPDA, 11-OH-JA y 12-OH-JA	80
2.4. Derivatización para JA-Ile	80
2.5. Cromatografía gaseosa-espectrometría de masa (GC-MS)	81
3. Contenido de proteínas totales	81
3.1. Obtención del extracto crudo	81
3.2. Curva de calibración	81
3.3. Determinación de proteínas totales	82
4. Cuantificación de fósforo total fosfolipídico y de cada especie fosfolipídica	82
4.1. Material vegetal	82

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions and activities. It emphasizes that this is crucial for ensuring transparency and accountability in the organization's operations.

2. The second part of the document outlines the various methods and tools used to collect and analyze data. It highlights the need for consistent and reliable data collection processes to support effective decision-making.

3. The third part of the document focuses on the role of technology in data management and analysis. It discusses how modern software solutions can streamline data collection, storage, and reporting, thereby improving efficiency and accuracy.

4. The fourth part of the document addresses the challenges associated with data management, such as data quality, security, and integration. It provides strategies to overcome these challenges and ensure the integrity and reliability of the data.

5. The fifth part of the document discusses the importance of data governance and the role of various stakeholders in ensuring that data is used responsibly and in compliance with relevant regulations and standards.

6. The sixth part of the document explores the future of data management, including emerging trends such as artificial intelligence, machine learning, and cloud-based data solutions. It discusses how these technologies will shape the way organizations manage and analyze their data.

7. The seventh part of the document provides a summary of the key findings and recommendations. It emphasizes the need for a comprehensive and integrated approach to data management that takes into account all aspects of the organization's operations.

8. The eighth part of the document concludes with a call to action, urging all stakeholders to take ownership of their data and work together to ensure its effective management and use for the benefit of the organization.

9. The ninth part of the document provides a list of references and resources for further reading. It includes books, articles, and online resources that provide additional insights into the topics discussed in the document.

10. The tenth part of the document provides a list of appendices and supplementary materials. These materials include detailed data collection forms, sample reports, and other documents that are relevant to the document's content.

11. The eleventh part of the document provides a list of contact information for the authors and other relevant parties. This information is provided to facilitate communication and collaboration among all stakeholders involved in the project.

12. The twelfth part of the document provides a list of acknowledgments. It expresses gratitude to all those who have supported and contributed to the project, including the organization's leadership, staff, and external partners.

13. The thirteenth part of the document provides a list of definitions and abbreviations. This section is included to ensure that all terms and acronyms used throughout the document are clearly understood by the reader.

14. The fourteenth part of the document provides a list of figures and tables. These visual aids are used to present data and information in a clear and concise manner, making it easier for the reader to understand the document's content.

15. The fifteenth part of the document provides a list of footnotes and endnotes. These notes provide additional information and references that are relevant to the document's content but are not included in the main text.

16. The sixteenth part of the document provides a list of page numbers and a table of contents. This information is provided to help the reader navigate the document and find the specific sections they are interested in.

17. The seventeenth part of the document provides a list of other relevant documents and reports. These documents provide additional context and information that are useful for understanding the document's content.



4.2. Incubación del tejido y estimulación con JA	82
4.3. Obtención del homogenato	83
4.4. Extracción lipídica	83
4.5. Determinación de fósforo total fosfolipídico	83
4.5.1. Curva de calibración	83
4.5.2. Cuantificación de fósforo total fosfolipídico	84
4.6. Determinación de fósforo presente en cada especie fosfolipídica	84
4.6.1. Separación de fosfolípidos	84
4.6.2. Determinación del patrón fosfolipídico	85
4.6.3. Cuantificación de fósforo contenido en cada especie fosfolipídica	85
5. Análisis histológico	85
5.1. Aplicación exógena de JA	85
5.2. Preparación de tejidos para microscopía óptica	85
5.3. Medición del área celular	86
6. Visualización de granos de almidón	86
6.1. Preparación de tejidos para microscopía óptica	86
6.2. Reconocimiento de almidón	86
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	87
1. Contenido endógeno de jasmonatos	87
2. Contenido de proteínas totales	87
3. Contenido de fósforo	87
3.1. Contenido de fósforo total fosfolipídico de estadíos controles	87
3.2. Cuantificación de fósforo presente en fosfolípidos	89
3.3. Efecto de JA sobre el contenido de fósforo presente en las diferentes especies fosfolipídicas	89
4. Efecto de JA exógeno a nivel celular	92
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93



INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1. ¿Porqué estudiar tubérculos de papa?

La planta de papa (Fig. 1) representa uno de los cultivos de mayor producción en el mundo, constituyendo el principal alimento de la población humana. El tubérculo es considerado el material inicial para próximas generaciones de plantas, y se lo denomina "*papa semilla*". Por las características mencionadas, los procesos de formación de tubérculos, almacenamiento y brotación han sido, y continúan siendo intensamente estudiados (Fernie y Willmitzer, 2001).



Fig 1. Planta de papa (*Solanum tuberosum* L. cv Spunta).

Los genetistas han mostrado notable interés en el estudio de la papa cultivada debido a que es tetraploide y posee un elevado grado de heterocigosis, brindando un gran recurso genético, el cual es fácilmente incorporable dentro de los cultivares (Ross, 1986). Además, cabe destacar que la papa, miembro de la familia de las Solanáceas, fue uno de los primeros cultivos utilizados para estudios transgénicos (Fernie y Willmitzer, 2001). El uso de marcadores moleculares ha permitido realizar un análisis detallado del genoma de papa, localizando muchos genes individuales que determinan rasgos cuantitativos (Finlay y col., 2003).

1.1. Origen e historia

La papa, originaria de América, tomándose como centro de origen el altiplano peruano-boliviano (*Solanum andigena*), y como centro secundario el archipiélago de Chiloé, en el sur de Chile (*Solanum tuberosum*), se ha difundido en casi todo el mundo. Los exploradores españoles llevaron la planta a Europa a fines del siglo XVI como curiosidad botánica, y hacia el siglo XIX se había expandido por todo el continente, proporcionando alimentación abundante y de bajo costo a los trabajadores de la revolución industrial (Vigliola y col., 1998).

No existe información concreta acerca de cuándo comenzó a cultivarse la papa en Argentina; sin embargo ciertas fuentes indican que comenzó en 1873 en la provincia de Santa Fe y más tarde en Buenos Aires. La primera "papa semilla" en Argentina



[The text in this section is extremely faint and illegible. It appears to be a series of paragraphs, possibly containing a list or a detailed report. The content is too light to transcribe accurately.]



provino de Europa (<http://www.cipotato.org>), y a partir de 1918 nuestro país comenzó a producir su propia “papa semilla”. En la actualidad la papa más cultivada es *Solanum tuberosum* L., la cual resulta del cruzamiento de las especies anteriormente mencionadas.

1.2. Distribución geográfica y zonas de producción

El área de distribución es muy amplia, desde el SO Estados Unidos hasta la región central y SO de Argentina y Chile, especialmente en el sector andino del continente. Argentina, conjuntamente con Perú, Bolivia y México son muy ricos en diversidad de especies, alcanzando el 88% de especies silvestres de papa de un total de 199 especies identificadas. URSS, China y Polonia encabezan la lista de países productores y representan más de la mitad de la producción mundial (Hijmans y Spooner, 2001).

En Argentina se produce papa en una extensa zona siendo el área de Balcarce (Pcia Bs As) la zona más importante con un 65% de la producción nacional (Fig. 2). Otras zonas de producción importantes son Santa Fé, Córdoba, Mendoza y Tucumán (<http://www.cipotato.org>).



Fig. 2. Zonas productoras de papa en Argentina. <http://www.cipotato.org>

1.3. Clasificación botánica

La papa es una planta dicotiledónea, herbácea, anual, de la familia *Solanaceae* que incluye especies como tabaco, tomate, berenjena y pimiento. El nombre científico *Solanum* deriva de la palabra “solanem” del latín que significa calmante.

El tallo es erecto y cilíndrico en las primeras etapas y luego se torna anguloso. Es de bajo porte (hasta 1 m de altura), y el sistema radical es fibroso y muy ramificado.

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions and activities. It emphasizes that this is crucial for ensuring transparency and accountability in the organization's operations.

2. The second part outlines the various methods and tools used to collect and analyze data. This includes both traditional manual methods and modern digital technologies, highlighting the benefits of automation in data processing.

3. The third section focuses on the role of data in decision-making. It explains how data-driven insights can help identify trends, anticipate challenges, and optimize resource allocation across different departments.

4. The fourth part addresses the security and privacy of data. It discusses the importance of implementing robust security protocols to protect sensitive information from unauthorized access and breaches.

5. The final section discusses the future of data management. It explores emerging trends such as artificial intelligence and machine learning, and how these technologies will continue to shape the way organizations handle their data.

Las hojas son compuestas, imparipinadas, con 3-4 pares de folíolos y 2 estípulas en la base del pecíolo. La inflorescencia es una cima terminal con flores de corola de color blanco al púrpura, pentámeras, hermafroditas, de fecundación autógama. El fruto es una baya bilocular, de 2-3 cm de diámetro, con 200-300 semillas. El tubérculo es órgano de producción y de propagación a la vez (Fig. 3).

El cultivo de papa se inicia a partir del tubérculo llamado “papa semilla”. Se requiere, como mínimo, que esa “semilla” a plantar pese 50 g y tenga una yema u “ojo”.



Fig. 3. Planta de papa.

1.4. Un tubérculo es un tallo modificado

El tubérculo de papa se desarrolla a partir de un tallo que crece bajo la tierra, denominado “estolón”, originado a partir de yemas laterales ubicadas en la base de los tallos, y cuyo crecimiento es horizontal. El estolón tiene el ápice en forma de gancho y hojas reducidas a escamas. El tubérculo es un estolón engrosado, de entrenudos cortos y hojas reducidas a escamas, las cuales al caer dejan una cicatriz, y en cuya axila se encuentran yemas múltiples, que al brotar originan los tallos de la nueva planta (Vigliola y col., 1998).

2. Proceso de tuberización

La tuberización resulta de la diferenciación de un tallo especializado: el “estolón”, en un órgano de reserva: el “tubérculo”, y comprende dos aspectos: el desarrollo morfológico del tubérculo y cambios bioquímicos resultantes de la formación y el almacenamiento de almidón (Xu y col., 1998a). Cuando las condiciones son favorables para el inicio de la tuberización, la elongación del estolón determinada por divisiones transversales que adicionan nuevas células al eje del estolón se detiene. Posteriormente, las divisiones en las células de la médula y corteza son longitudinales, y las nuevas células se adicionan al eje transversal del tubérculo, ensanchando el meristema subapical del estolón. En tubérculos de 0.8 cm de diámetro se producen divisiones celulares en toda dirección en células meristemáticas de la región perimedular, que continúan hasta que los tubérculos alcanzan su tamaño final (Xu y



Faint, illegible text in the upper right section of the page, possibly a header or introductory paragraph.

Main body of faint, illegible text in the middle section of the page, consisting of several paragraphs.

Faint, illegible text in the lower section of the page, possibly a conclusion or a list of items.

Faint, illegible text at the bottom of the page, possibly a footer or a signature line.

col., 1998a). Así, el inicio de la tuberización se debe principalmente a la expansión de las células; mientras que el crecimiento isodiamétrico del tubérculo está dado por la división y la expansión celular (Takahashi y col., 1994). El crecimiento del tubérculo depende de la expansión de los entrenudos del estolón (Peterson y col., 1985).

Los estolones tienen la estructura de un tallo con haces vasculares a lo largo del eje longitudinal y en el meristema apical se desarrollan ocho entrenudos (Fig. 4A). La primera evidencia de la formación del tubérculo *in vivo* es el ensanchamiento del último entrenudo elongado, el cual es generalmente el octavo contando desde la región apical (Fig. 4A, 4B). Al décimo día, el tubérculo presenta un tamaño de 0.8 cm de diámetro a causa del incremento de la región perimedular, incluyendo floema externo, xilema y floema interno (Fig. 4C). Una vez que el tubérculo alcanza los 2 cm de diámetro los entrenudos se concentran en la parte superior del tubérculo, como lo demuestra la posición de las yemas u “ojos” (Fig. 4D). Con el incremento del tejido perimedular los tejidos vasculares se disponen irregularmente, dispersándose elementos de xilema y floema por toda la región (Xu y col., 1998a).

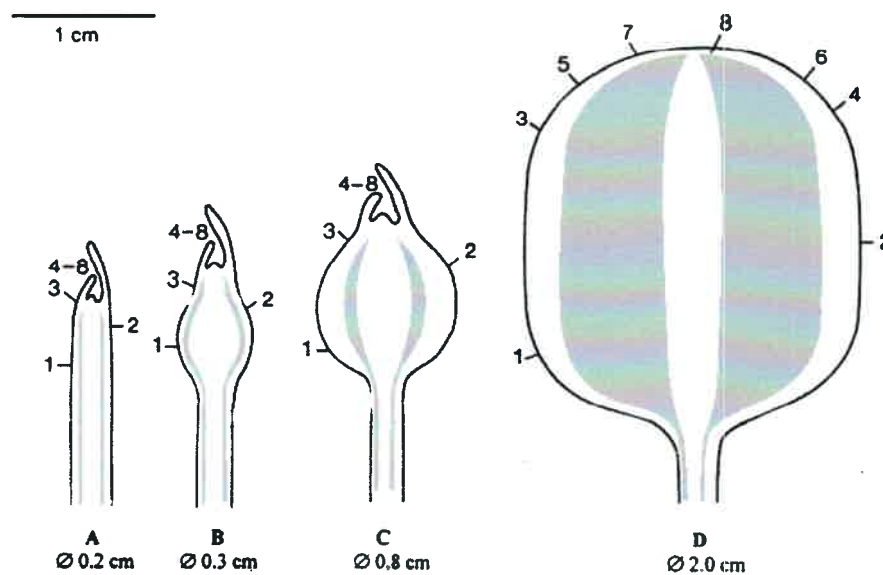


Fig. 4. Secciones longitudinales de estolones y tubérculos de papa *in vivo*. Morfología y ensanchamiento del tejido perimedular (área gris). Los números indican los nudos. A, estolón de 0.2 cm de diámetro; B, tubérculo en desarrollo de 0.3 cm, crecimiento del tejido medular (área blanca); C, tubérculo de 0.8 cm y D, tubérculo de 2 cm, crecimiento de la región perimedular (Xu y col., 1998a).

Handwritten text, likely bleed-through from the reverse side of the page. The text is mostly illegible due to fading and bleed-through.



Handwritten text, likely bleed-through from the reverse side of the page. The text is mostly illegible due to fading and bleed-through.

A lo largo del proceso de tuberización se ha observado un aumento en el número de células en dichos tejidos, como también un incremento en el ancho de las células, siendo menor en la región cortical y más importante en la región perimedular (Xu y col., 1998a).

2.1. Factores involucrados en la formación del tubérculo

Se conoce que la producción de nuevos órganos (morfogénesis) es controlada con precisión por constituyentes celulares tales como factores químicos endógenos (fitohormonas), y por factores ambientales y genéticos. En la Fig. 5 se observan los factores ambientales y endógenos que inducen la formación de tubérculos.

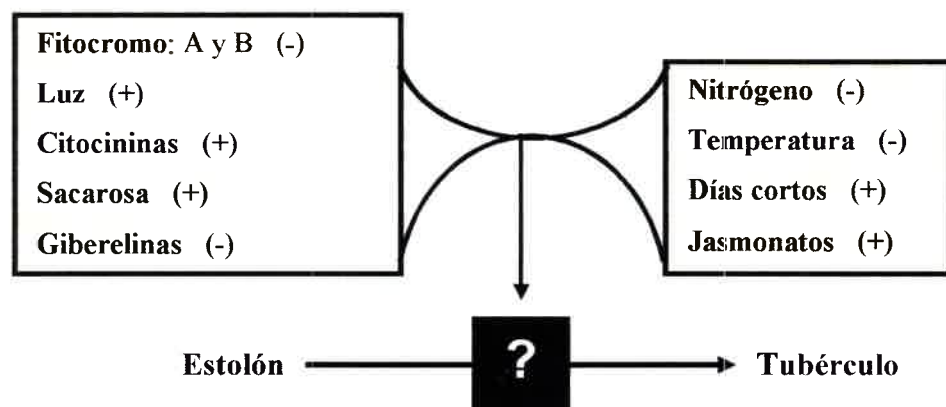


Fig. 5. Factores ambientales y moléculas señal en la inducción de tuberización. Entre paréntesis se identifica la condición que favorece o inhibe la tuberización (Fernie y Willmitzer, 2001).

La tuberización se favorece por: fotoperíodos cortos (noches largas), bajas temperaturas, bajos niveles de nitrógeno, y una avanzada “edad fisiológica” del tubérculo madre (Jackson, 1999). Otro aspecto importante de la inducción de tuberización es la observación que el estímulo es percibido en las hojas de la planta y es transmitido por un injerto (Gregory, 1956). De este modo, el estímulo inductor de tubérculo y el estímulo de floración están relacionados debido a que se ha observado que el injerto de una planta de tabaco inducida a florecer con un tallo de papa conduce a la formación de tubérculos. En la transmisión de la señal del injerto está involucrado el fitocromo B (Jackson y col., 1998). Otro fitocromo que participa en este proceso es

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions.

2. It is essential to ensure that all entries are supported by appropriate documentation and receipts.

3. Regular reconciliation of accounts is necessary to identify any discrepancies or errors in a timely manner.

4. The second part of the document outlines the procedures for handling customer inquiries and complaints.

5. All staff members should be trained to provide a high level of customer service and to resolve issues effectively.

6. It is important to maintain a clear and concise communication channel with customers at all times.

7. The third part of the document details the process for managing inventory and stock levels.

8. Regular audits should be conducted to ensure that inventory records are accurate and up-to-date.

9. The final part of the document provides a summary of the key points discussed and offers recommendations for future improvements.

10. It is hoped that these guidelines will help to streamline operations and improve overall efficiency.

el fitocromo A, el cual reajusta el reloj circadiano y retarda la formación de tubérculo bajo condiciones no inductoras (Yanofsky y col., 2000).

Estudios *in vitro* revelaron el requerimiento de elevados niveles de sacarosa para la inducción de tuberización. Xu y col. (1998b) encontraron que medios con 8% de sacarosa conducen a la formación anticipada de tubérculos.

Entre los reguladores del crecimiento que participan en el proceso de tuberización se mencionan, entre otros, a las giberelinas como sustancias que retrasan tuberización (Guiñazú y col., 1988; Simko, 1993; Abdala y col., 2002), y a los jasmonatos como promotores de la misma (Koda y col., 1991; Pelacho y Mingo-Castel, 1991; Nojiri y col., 1992; Abdala y col., 2002). Con respecto a la participación de las giberelinas se ha informado que sus niveles disminuyen durante la tuberización. Xu y col. (1998b) observaron que la forma GA₁ es biológicamente activa en el proceso de tuberización, y que bajo condiciones inductoras de tuberización existe un elevado contenido de GA₁ durante la elongación del estolón; mientras que durante el desarrollo del tubérculo el contenido de la misma fue bajo. Además, demostraron que la región subapical del estolón es sensible a GA, y que elevados niveles determinan una disposición transversal de los microtúbulos corticales, siendo las divisiones celulares transversales y conduciendo a la elongación del estolón; mientras que bajos niveles de GA producen una reorientación longitudinal de microtúbulos resultando el ensanchamiento del estolón y la consiguiente formación del tubérculo.

Además, la aplicación exógena de GA a plantas expuestas a días largos previno la tuberización. Por otra parte, estudios transgénicos han determinado que la inhibición antisense de la enzima GA oxidasa produce plantas que tuberizan antes que plantas controles cuando son crecidas bajo días cortos (Carrera y col., 2000).

Ácido jasmónico y sus derivados están involucrados en este proceso; el ácido tuberónico, químicamente similar al JA, induce la formación de tubérculo (Yoshihara y col., 1989). Este compuesto fue considerado por un largo tiempo la señal inductora de tubérculo (Jackson, 1999). Se ha informado que elevados niveles de JA en estolones de papa podrían causar el cese del crecimiento del estolón e inducir el ensanchamiento de la región subapical (Abdala y col., 1996).

Por otra parte, aplicaciones exógenas de citocininas, tanto en *in vitro* como *in vivo*, promueven la formación de tubérculo; ellas inducen el crecimiento a través del incremento en la división celular (Koda, 1982).

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that proper record-keeping is essential for the integrity of the financial system and for the ability to detect and prevent fraud. The text notes that records should be kept in a secure and accessible format, and that they should be reviewed regularly to ensure their accuracy and completeness.

2. The second part of the document addresses the issue of data security. It highlights the need to protect sensitive information from unauthorized access, disclosure, or destruction. This is achieved through the implementation of robust security measures, such as encryption, access controls, and regular security audits. The document also stresses the importance of employee training and awareness in maintaining data security.

3. The third part of the document focuses on the role of technology in modern financial systems. It discusses how advanced technologies, such as artificial intelligence and machine learning, can be used to enhance the efficiency and accuracy of financial processes. However, it also notes that the use of technology must be accompanied by strong governance and oversight to ensure that it is used responsibly and in compliance with applicable regulations.

4. The fourth part of the document discusses the importance of transparency and accountability in financial reporting. It states that organizations should provide clear and concise information about their financial performance and the risks they face. This helps investors and other stakeholders make informed decisions and holds management accountable for their actions.

5. The fifth part of the document addresses the issue of risk management. It explains that organizations should identify, assess, and mitigate the risks they face in a systematic and proactive manner. This involves the use of risk assessment tools and the implementation of risk management policies and procedures. The document also notes that risk management is an ongoing process that requires regular monitoring and review.

6. The sixth part of the document discusses the importance of ethical conduct in the financial industry. It states that all financial professionals should adhere to a high standard of ethical behavior and integrity. This includes being honest, fair, and transparent in all transactions and interactions. The document also notes that ethical conduct is essential for maintaining the trust and confidence of the public in the financial system.

7. The seventh part of the document addresses the issue of regulatory compliance. It explains that organizations must stay up-to-date on the latest regulatory requirements and ensure that they are fully compliant with all applicable laws and regulations. This involves the implementation of robust compliance programs and the use of qualified professionals to monitor and enforce compliance.

8. The eighth part of the document discusses the importance of continuous improvement in financial systems. It states that organizations should regularly evaluate their performance and identify areas for improvement. This involves the use of benchmarking, process mapping, and other tools to identify inefficiencies and opportunities for optimization. The document also notes that continuous improvement is essential for staying competitive in a rapidly changing market.

9. The ninth part of the document addresses the issue of stakeholder engagement. It explains that organizations should actively engage with their stakeholders, including investors, customers, and the community, to understand their needs and expectations. This involves the use of communication channels, such as reports, webinars, and social media, to provide timely and relevant information. The document also notes that stakeholder engagement is essential for building trust and loyalty.

10. The tenth part of the document discusses the importance of sustainability in financial systems. It states that organizations should consider the environmental, social, and governance (ESG) impacts of their operations and investments. This involves the use of sustainability metrics and the implementation of sustainability programs and initiatives. The document also notes that sustainability is becoming an increasingly important factor in investment decisions.

La evidencia que ABA ejerce un papel inductor de tubérculo es menos convincente que para JA (Jackson, 1999). En cultivos de explantos de tallos uninodales de papa se observó una disminución en los niveles endógenos de ABA al día 10 (100% tuberización), por lo que ABA no sería un regulador de la formación de tubérculo (Xu y col., 1998b). Sin embargo, previamente Koda y Okazawa (1983) encontraron un aumento en ABA durante la tuberización, el cual indujo dormancia del meristema apical.

2.2. Cambios metabólicos durante la transición estolón-tubérculo

Además de los cambios en la morfología y división celular que tienen lugar en etapas tempranas de la transición estolón-tubérculo, el inicio y crecimiento del tubérculo está acompañado por cambios en la fisiología y metabolismo. Durante el crecimiento del tubérculo éste se vuelve el órgano de la planta de mayor tamaño y de almacenamiento de elevadas cantidades de carbohidratos, principalmente de almidón, y también de proteínas. Además el tubérculo presenta una actividad metabólica disminuída comportándose como un órgano de reserva típico. Aproximadamente el 2% del peso fresco del tubérculo de papa corresponde a proteínas mientras que entre 15-25% a almidón. La composición de proteínas cambia notablemente durante la transición estolón-tubérculo, siendo la más abundante la patatina. El cambio más evidente durante el desarrollo del tubérculo es la formación masiva de almidón, representando el 20% del peso fresco de un tubérculo maduro (Ferne y Willmitzer, 2001).

Los carbohidratos, especialmente la sacarosa, influyen la tuberización, no sólo como sustratos para la biosíntesis de almidón, sino también como factor que controla la morfogénesis (Vreugdenhil y col., 1998). La sacarosa ejerce una potente actividad inductora de tuberización, y tanto la vía apoplástica como simplástica participan en la liberación de sacarosa al tubérculo en desarrollo. Viola y col. (2001) demostraron que al inicio de la tuberización de papa hay un cambio en la descarga de sacarosa, de una vía predominantemente apoplástica en estolones hacia una simplástica en tubérculos en desarrollo. Estos autores encontraron que la sacarosa fue el azúcar más abundante en la región apical de estolones no ensanchados, y que su concentración disminuye a lo largo del eje; mientras que en estolones ensanchados el incremento en sacarosa se concentró en la región del ensanchamiento. A pesar de que una cantidad elevada de

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that proper record-keeping is essential for the integrity of the financial system and for the ability to detect and prevent fraud. The text also mentions the need for regular audits and the role of internal controls in ensuring the reliability of the data.

2. The second part of the document focuses on the role of the accounting department in providing accurate and timely financial information to management. It highlights the importance of the accounting department in identifying areas of inefficiency and in recommending ways to improve the organization's performance. The text also discusses the need for the accounting department to maintain a high level of ethical standards and to be transparent in its reporting.

3. The third part of the document discusses the importance of communication between the accounting department and other departments in the organization. It emphasizes that effective communication is essential for the accounting department to understand the needs of other departments and to provide them with the information they need to make informed decisions. The text also mentions the need for the accounting department to be proactive in identifying and addressing any issues that may arise.

4. The fourth part of the document discusses the importance of the accounting department in providing accurate and timely financial information to the external stakeholders. It highlights the need for the accounting department to be transparent and to provide clear and concise information to investors, creditors, and other interested parties. The text also mentions the need for the accounting department to be proactive in identifying and addressing any issues that may arise.

sacarosa favorece la inducción de la tuberización; estudios transgénicos revelaron que la formación de almidón no es determinante de este proceso (Müller-Röber y col., 1992). Estos autores observaron que la supresión “antisense” de la ADP-glucosa pirofosforilasa producía inhibición de la síntesis de almidón y de patatina, en consecuencia los tubérculos presentaron niveles reducidos de almidón; sin embargo, estas plantas formaron tubérculos normales; aunque en mayor número, y de menor tamaño.

3. La morfogénesis en el desarrollo de la planta

La morfogénesis se realiza mediante tres fenómenos: 1. control espaciotemporal del crecimiento celular, 2. control espaciotemporal de la división celular y 3. control espaciotemporal de la diferenciación celular. La división y crecimiento celular están controlados por señales ambientales u hormonales, y se relacionan a una disposición específica del citoesqueleto (Nick, 1999). Estudios genéticos y moleculares sustentan la existencia de un mecanismo de compensación entre la división celular y la expansión celular determinante del crecimiento celular; por lo que una deficiencia en uno de los procesos puede ser parcialmente restablecida por el otro (Doonan, 2000).

Las células vegetales han desarrollado una disposición específica del citoesqueleto consistente en microtúbulos (MTs) y microfilamentos que constituyen el nexo entre señal de transducción y morfogénesis celular, por lo que la disposición del citoesqueleto tiene un interés especial en la respuesta a diferentes señales (Nick, 1999). El citoesqueleto interviene en el control de la orientación de la división y expansión celular, cumpliendo múltiples funciones, tales como: definir regiones localizadas de la pared celular, orientar las microfibrillas de celulosa, y repartir vesículas que contienen nuevo material de pared a zonas en expansión (Martin y col., 2001).

En células de papa cultivadas en suspensión, Collings y Emons (1999) observaron durante la interfase una disposición transversal tanto de los filamentos de actina como de los MTs en las células que se elongan, y en toda dirección en las células isodiamétricas. Todas las configuraciones del citoesqueleto observadas en células de papa en suspensión ocurren en la planta entera (Sonobe y Shibaoka, 1989).

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions.

2. It is essential to ensure that all entries are supported by appropriate documentation, such as receipts and invoices.

3. Regular reconciliation of accounts is necessary to identify any discrepancies and correct them promptly.

4. The second part of the document outlines the procedures for handling customer complaints and inquiries.

5. It is important to respond to all customer feedback in a timely and professional manner.

6. The final section provides a summary of the key points discussed throughout the document.

3.1. Meristemas: sitios de división y expansión celular

Una especialidad de las plantas es que pueden modular su plan corporal luego de la embriogénesis, una habilidad que les permite sobrellevar cambios del medio ambiente que afectan su crecimiento. Esta flexibilidad en el desarrollo y organogénesis es proporcionada por “pools” de células en división, pluripotentes que residen en estructuras denominadas *meristemas*, en los cuales ocurren procesos de división y crecimiento celular (Beemster y col., 2003). Dos poblaciones celulares meristemáticas surgen durante la embriogénesis y crecen en direcciones polares a lo largo de la vida de la planta: el meristema apical caulinar (MAC), el cual genera la parte aérea de la planta, y el meristema apical radical que genera la parte subterránea de la planta (Cristel y Fletcher, 2003).

A lo largo de la vida de la planta, el MAC produce tejidos caulinares (tallos) a partir de regiones basales, órganos laterales (hojas) a partir de regiones periféricas, y también se regenera a sí mismo; manteniendo de este modo una población celular pluripotente para el crecimiento normal (Bowman y Eshed, 2000; Jürgens, 2003). Este flujo de células a través del meristema depende de señales extracelulares dentro del MAC y de factores que previenen la diferenciación prematura de células meristemáticas (Cristel y Fletcher, 2003).

Cabe recordar que el estolón es un tallo modificado, por lo tanto su estructura corresponde a la de un tallo aéreo. Análisis citohistológicos del MAC han definido tres zonas en base a sus densidades citoplasmáticas y patrones de división celular: la zona periférica, la zona central y la zona medular. Estas zonas representan una subdivisión funcional, puesto que cada una de ellas tiene una función diferente. Es decir, los órganos laterales son producidos a partir de células de la zona periférica; mientras que los tejidos del tallo derivan de células de la zona medular. La zona central, caracterizada por tener menor actividad mitótica (Lausf, 1998) actúa como reservorio de células, suministrando células a las demás zonas, como también manteniendo la integridad de sí misma. Además estas zonas están compuestas de diferentes capas de células, y la comunicación entre ellas es requerida para coordinar procesos de desarrollo. En la mayoría de las especies dicotiledóneas, el MAC está compuesto por tres capas: la capa epidérmica y subepidérmica mantenidas casi exclusivamente por divisiones celulares anticlinales, y colectivamente referidas a la *túnica*. Por otra parte,

Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page. The text is arranged in several paragraphs and is too light to transcribe accurately.

las células del interior de la capa subepidérmica constituyen el *cuerpo*, en el cual se observan varios planos de división celular (Bowman y Eshed, 2000).

4. Jasmonatos en diferentes eventos de señalización

Los jasmonatos (JAs), en particular el éster metílico del ácido jasmónico (Me-JA) fue identificado por primera vez en 1962 como principal constituyente del aceite etérico del jasmín (Demole y col., 1962), y su ácido libre fue identificado en cultivos del hongo *Botryodiplodia theobromae* (Aldridge y col., 1971). Durante los años 80, se describieron numerosos efectos fisiológicos de los JAs, tales como la inhibición del crecimiento de raíz (Staswick y col., 1992) y la promoción de senescencia (Parthier, 1991). En 1983 la vía de síntesis de estos compuestos fue dilucidada (Vick y Zimmerman, 1983).

En la década pasada, el JA y compuestos relacionados fueron propuestos como señales en las respuestas de las plantas a una gran variedad de factores bióticos y abióticos; así como en diversos procesos de desarrollo (Fig. 6) (Creelman y Mullet, 1995; Wasternack y Hause, 2002).

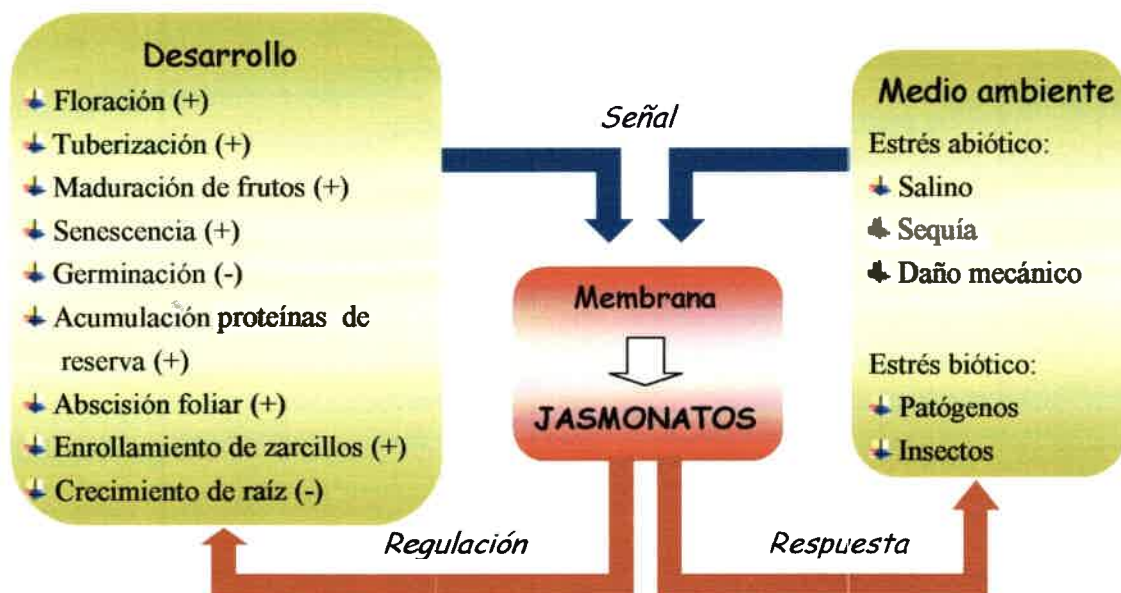


Fig. 6. Participación de JAs en respuesta a señales del desarrollo y del medio ambiente.

Por otra parte, los JAs son requeridos para la deshiscencia de la antera y el desarrollo del polen (McConn y Browse, 1996; Sanders y col., 2000; Stintzi y Browse,

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions.

2. It is essential to ensure that all entries are supported by appropriate documentation.

3. The second part of the document outlines the procedures for handling discrepancies and errors.

4. It is important to identify the cause of any errors and take corrective action promptly.

5. The third part of the document provides a detailed description of the accounting system used.

6. This includes information about the software and hardware used to process transactions.

7. The fourth part of the document discusses the internal controls implemented to prevent fraud.

8. These controls are designed to ensure the integrity and accuracy of the financial data.

9. The fifth part of the document provides a summary of the findings and conclusions.

10. It highlights the areas where improvements can be made to the accounting system.

11. The sixth part of the document contains a list of recommendations for future actions.

12. These recommendations are based on the findings and conclusions of the audit.

13. The seventh part of the document provides a detailed description of the accounting system used.

14. This includes information about the software and hardware used to process transactions.

15. The eighth part of the document discusses the internal controls implemented to prevent fraud.

16. These controls are designed to ensure the integrity and accuracy of the financial data.

17. The ninth part of the document provides a summary of the findings and conclusions.

18. It highlights the areas where improvements can be made to the accounting system.

19. The tenth part of the document contains a list of recommendations for future actions.

20. These recommendations are based on the findings and conclusions of the audit.

2000). Además, su participación en respuesta al ataque de herbívoros (Ryan, 1992; Farmer y Ryan, 1992), al daño mecánico (Reymond y col., 2000), al estrés osmótico (Lehmann y col., 1995; Kramell y col., 2000), a la elicitación (Gundlach y col., 1992; Mueller y col., 1993), al ozono (Rao y col., 2000), conjuntamente con las interacciones planta-patógeno (Penninckx y col., 1996) permitieron dilucidar sus funciones.

Numerosas respuestas de las plantas al estrés conducen al aumento en los niveles de JAs y de su precursor, seguido por la alteración de la expresión de genes mediada por JAs. Inclusive, algunos de ellos codifican para enzimas de su propia biosíntesis, (Heitz y col., 1997; Laudert y Weiler, 1998; Mussig y col., 2000; Ishiguro y col., 2001; Seo y col., 2001), indicando de este modo un control positivo de la biosíntesis de JAs (Hause y col., 2003).

Entre los genes que participan en respuestas mediadas por JAs caben destacar los que codifican para proteínas tales como: inhibidor proteinasa (*pin2*) acumulada en respuesta al ataque de herbívoros (Ryan, 1992; Farmer y Ryan, 1992; Schaller y Ryan, 1996); proteínas de reserva vegetativa (VSPs), tales como lipoxigenasa, fosfatasa ácida, napina y cruciferina (Staswick, 1990; Grimes y col., 1993; Creelman y Mullet, 1995), proteínas de pared celular (Creelman y col., 1992), enzimas de la síntesis de fitoalexinas (Gundlach y col., 1992; Mueller y col., 1993; Blechert y col., 1995), proteínas relacionadas a patogénesis, como tioninas (Andresen y col., 1992; Ellard-Ivey y Douglas, 1996), y otras que participan en el estrés osmótico (Lehmann y col., 1995) e hídrico (Bartels y col., 1990). Por lo tanto, el hecho de que estímulos externos producen incremento en los niveles endógenos de JAs condujo a un creciente interés en su biosíntesis y regulación.

La vía de señal de transducción de JA aún se desconoce, pero se presume que JAs interactúan con receptores celulares que activan la vía de señal resultando cambios en la transcripción, traducción y otras respuestas mediadas por JA. Además, la naturaleza lipofílica y volátil de JA y Me-JA respectivamente, dificulta el estudio de posibles receptores de JA (Creelman y Mullet, 1997). Sin embargo, otros componentes de la vía de señal de transducción han podido dilucidarse debido al análisis y caracterización de mutantes de la biosíntesis de JA (deficientes de JAs) o de señal (insensibles a JAs exógenos), los cuales han permitido la identificación de vías de señal distintas, establecer interrelaciones entre ellas, e inferir la función de los JAs en

Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page. The text is arranged in several paragraphs and is too light to transcribe accurately.

diversos procesos (Berger, 2002). Se conoce que la vía de señal ocurre a nivel intracelular, intercelular, sistémica como también orgánicamente. Actualmente, se han comenzado a realizar análisis funcionales por genética inversa (Wasternack y Parthier, 1997; Wasternack y Hause, 2002) que en un futuro cercano permitirán esclarecer la señalización por JAs.

4.1. Ocurrencia de jasmonatos

Los JAs se encuentran ubicuamente en plantas superiores. Son compuestos que poseen homología estructural y funcional con los esteroides y prostaglandinas presentes en animales, y originados a partir del ácido araquidónico. Interesantemente, en animales están involucrados en eventos inflamatorios y en respuestas al dolor; por lo que, tanto las plantas como animales han desarrollado una estrategia de defensa (Bergey y col., 1996).

JA es un compuesto ciclopentanona que posee una cadena pentenilo y una cadena carboxílica (Fig. 7). Entre los cuatro isómeros posibles, el enantiómero (-)-JA tiene la configuración absoluta ($3R, 7R$), la forma (+)-7-*iso*-JA ($3R, 7S$) es nativa y fisiológicamente activa; mientras que el enantiómero *trans*-($3R, 7R$) es el más estable termodinámicamente.

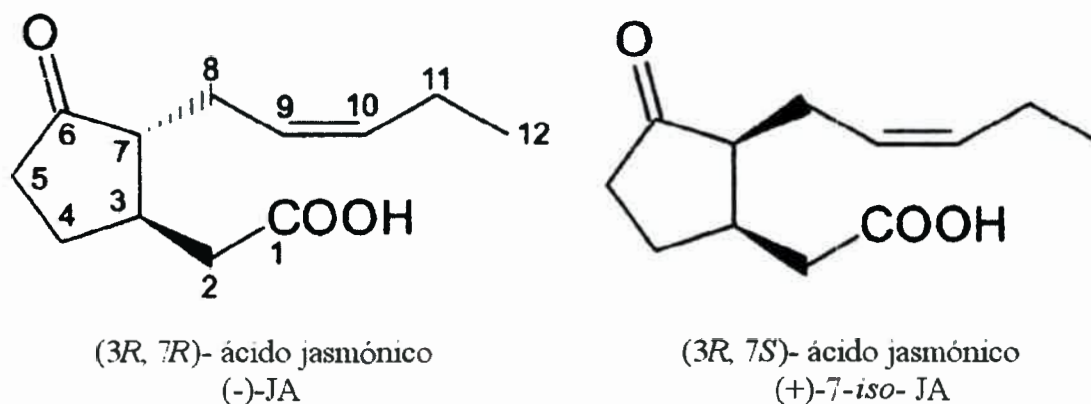


Fig. 7. Estructura del ácido jasmónico (Wasternack y Parthier, 1997)

El JA puede ser catabolizado para formar el éster metílico (Me-JA), los derivados hidroxilados 11-hidroxi-JA (11-OH-JA) y 12-hidroxi-JA (12-OH-JA), numerosos

The first step in the synthesis of the target molecule is the conversion of the starting material into a more reactive intermediate. This is achieved by the reaction of the starting material with a strong oxidizing agent, which results in the formation of a carboxylic acid intermediate.

The second step involves the reduction of the carboxylic acid intermediate to a primary alcohol. This is accomplished using a suitable reducing agent, which selectively reduces the carboxylic acid group without affecting other functional groups present in the molecule.

The final step in the synthesis is the conversion of the primary alcohol into the target molecule. This is done by reacting the alcohol with a suitable reagent, which results in the formation of the desired product.



Figure 1: Chemical structure of the starting material, cyclohexanecarboxylic acid with a propyl group.



Figure 2: Chemical structure of the starting material, cyclohexanecarboxylic acid with a propyl group, showing the chair conformation of the propyl group.

The synthesis of the target molecule is a multi-step process that involves the conversion of the starting material into a more reactive intermediate, followed by the reduction of the intermediate to a primary alcohol, and finally the conversion of the alcohol into the target molecule.

conjugados con aminoácidos, tales como valina, leucina e isoleucina, y el *O*-glucósido de 12-OH-JA (Fig. 8).

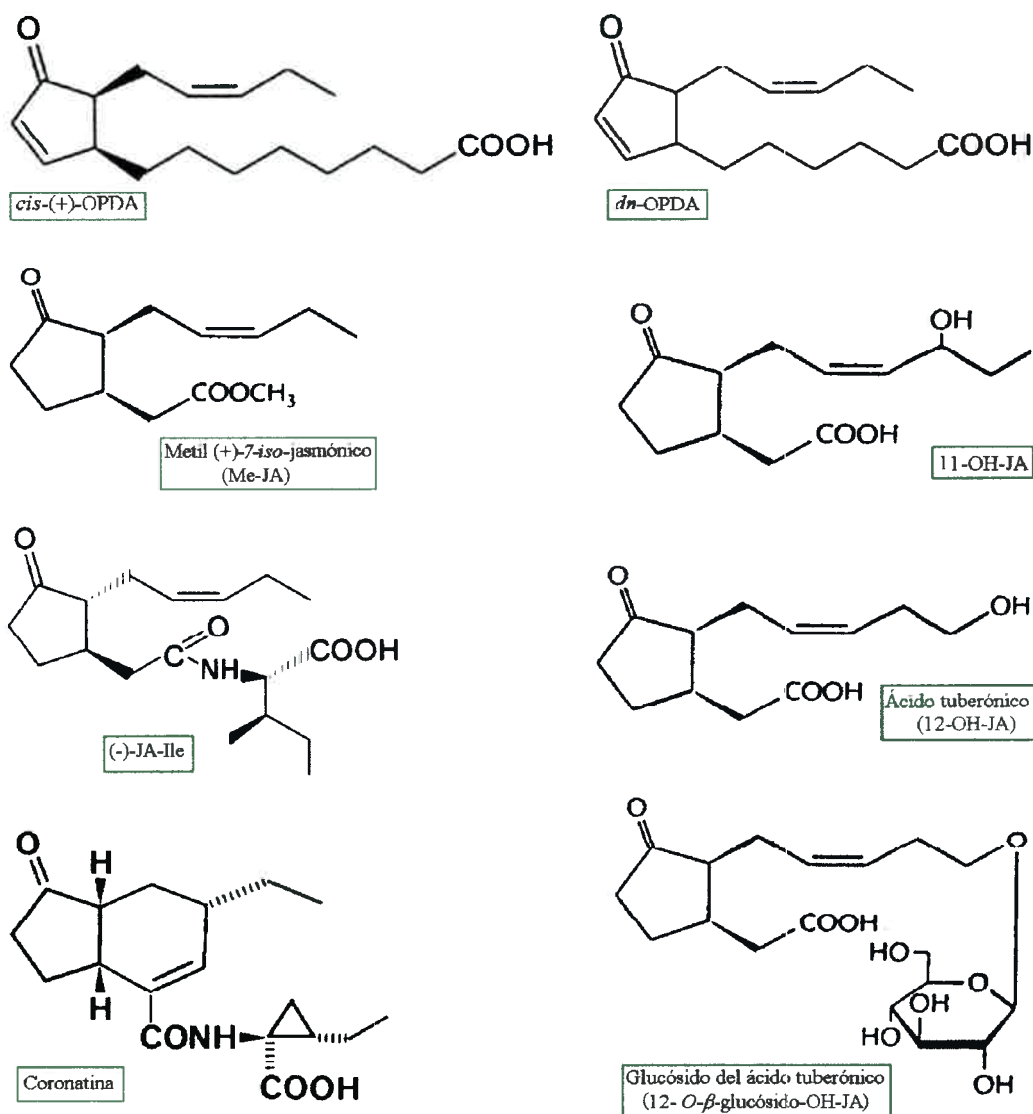


Fig. 8. Estructura de los JAs y octadecanoicos más importantes. Se incluye también la coronatina, compuesto similar en estructura y actividad biológica a JA.

Estos compuestos son derivados que ocurren naturalmente, y en algunos de ellos se ha podido dilucidar su actividad biológica, y se denominan colectivamente *jasmonatos*. Todos ellos se originan a partir de OPDA; presentándose también OPDAME, y en conjunto constituyen los *octadecanoicos*. En analogía a los eicosanoides de mamíferos, los jasmonatos y octadecanoicos son miembros de un



grupo llamado “*oxilipinas*”, el cual incluye metabolitos formados por oxidación de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) (Wasternack y Hause, 2002).

Un avance importante en respuestas mediadas por JAs fue el hallazgo de que OPDA, precursor de JA es activo *per se*, actúa como señal en procesos fisiológicos y de defensa contra herbívoros, e induce un amplio espectro de resistencias en ausencia de JA (Stelmach y col., 2001; Stintzi y col., 2002). Su forma metilada OPDAME es inclusive más activa que MeJA en inducir enrollamiento de zarcillos (Stelmach y col., 1998), y se la ha identificado también en raíces transformadas de tomate (Abdala y col., 2003).

Me-JA está presente permanentemente en los tejidos vegetales, sugiriendo la existencia de un equilibrio entre el ácido libre y su éster metílico. Recientemente, se clonó una carboxil metiltransferasa específica de *A. thaliana* (Seo y col., 2001) la cual se expresa en casi todas las partes de la planta, incluyendo flores, en respuesta a diferentes tipos de estrés y conduce a una acumulación preferencial de Me-JA respecto a JA, sugiriendo que Me-JA podría actuar en el señalamiento sistémico. De este modo, este compuesto podría difundir a las partes distales de la planta vía fase gaseosa (Karban y col., 2000) o mediante migración intercelular, posiblemente a través de floema (Ruiz-Medrano y col., 2001).

Por otra parte, entre los conjugados de JA con aminoácidos, predomina el conjugado con isoleucina, y se acumula bajo estrés (Kramell y col., 1995; Kramell y col., 2000). Además, se informó la existencia de un análogo estructural al conjugado de JA con isoleucina, denominado coronatina. Este compuesto es una fitotoxina producida por *Pseudomonas spp.* que induce tuberización y expansión celular (Koda y col., 1996; Krumm y Boland, 1996). Estudios previos, habían informaron que la coronatina inducía el enrollamiento de zarcillos de *Bryonia dioica* (Weiler y col., 1994), al igual que OPDA.

Debido al perfeccionamiento de técnicas analíticas como cromatografía gaseosa-espectrometría de masa (GC-MS) diversos octadecanoicos han sido detectados. Recientemente, Stelmach y col. (2001) detectaron en hojas de *Arabidopsis thaliana* un derivado de OPDA esterificado, el (12-oxo-fitodienoil)-monogalactosildiglicérido (MGDG-O), el cual en situaciones de estrés libera OPDA a través de una lipasa específica que actúa en posición *sn*-1. De este modo, OPDA esterificado podría funcionar como compuesto de reserva (Wasternack y Hause, 2002).

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that proper record-keeping is essential for the integrity of the financial system and for the ability to detect and prevent fraud. The text notes that without reliable records, it would be difficult to track the flow of funds and identify any irregularities.

2. The second part of the document outlines the various methods used to collect and analyze data. It describes the use of statistical techniques to identify trends and patterns in the data. The text also discusses the importance of ensuring the accuracy and reliability of the data sources used in the analysis.

3. The third part of the document focuses on the role of the auditor in the process. It explains that the auditor's primary responsibility is to provide an independent and objective assessment of the financial statements. The text highlights the need for the auditor to maintain a high level of professional skepticism and to adhere to strict ethical standards.

4. The fourth part of the document discusses the challenges faced by auditors in the current environment. It notes that the increasing complexity of financial transactions and the use of sophisticated accounting techniques have made the auditing process more difficult. The text also mentions the need for auditors to stay up-to-date on the latest developments in the field.

5. The fifth part of the document provides a summary of the key findings and conclusions. It reiterates the importance of accurate record-keeping and the role of the auditor in ensuring the integrity of the financial system. The text also offers some recommendations for improving the auditing process and for addressing the challenges mentioned earlier.



Otro hallazgo importante fue el descubrimiento de dinor-OPDA (dnOPDA) producto del ácido hexadecatrienoico (16:3) (Weber y col., 1997), cuya presencia ocurre conjuntamente con OPDA derivado de ácido linolénico (18:3). La fluctuación en el nivel de dnOPDA depende, al igual que de otras oxilipinas, de las diferentes condiciones de estrés.

Recientemente, un nuevo jasmonato volátil, *cis*-jasmone ha sido identificado en plantas de *Jaminun grandiflorum* y *Artemisia vulgaris*, el cual actúa en mecanismos de defensa, principalmente contra insectos (Birkett y col., 2000).

El contenido endógeno de JAs y octadecanoicos varía entre las diferentes especies de plantas dependiendo del tejido y tipo celular, estadio de desarrollo de la planta, y en respuesta a diferentes estímulos del medio ambiente (Creelman y Mullet, 1997). Los JAs generalmente están en el rango picomolar por gramo de peso fresco en tejido de hojas y pueden aumentar rápidamente bajo estímulos externos. Algunos órganos y tejidos exhiben por encima de 10 veces el nivel encontrado en hojas, sugiriendo que estos niveles elevados presentan funciones diferentes en la regulación de determinados procesos de desarrollo (Wasternack y Hause, 2002).

4.2. Biosíntesis de jasmonatos

Los JAs se originan a partir del ácido graso poliinsaturado (PUFA), α -ácido linolénico (α -LA). La enzima lipoxigenasa (LOX) produce la oxigenación en el átomo de carbono 13 (13-LOX) (Feussner y Wasternack, 2002), conduciendo al ácido 13-hidroperóxido-octadecatrienoico (13-HPOT); el cual es convertido por la acción una óxido de aleno sintasa (AOS) a un óxido de aleno altamente inestable (ácido 12, 13-epoxi-octadecatrienoico), el cual en presencia de una óxido de aleno ciclasa (AOC) origina al ácido *cis* (+)-12-*oxo*-fitodienoico (OPDA). Los primeros compuestos cíclicos en la biosíntesis de JA son las ciclopentenonas OPDA y dnOPDA, los cuales son reducidos a ciclopentanonas mediados por OPDA reductasas (OPRs), conduciendo a la formación del ácido 3-oxo-pentenilo-ciclopentano-octanoico (OPC-8:0), el cual luego de tres ciclos de β -oxidación origina (+)-7-*iso*-ácido jasmónico (Wasternack y Hause, 2002). Por otra parte, *Arabidopsis* (planta "16:3", que sintetiza parte de sus ácidos grasos vía procarriota, y contiene ácido hexadecatrienoico en sus galactolípidos cloroplásticos), presenta una vía hexadecanoica (16:3) paralela a la octadecanoica (18:3) descripta anteriormente (Fig. 9) (Weber y col., 1997).



The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry should be supported by a valid receipt or invoice. This ensures transparency and allows for easy auditing of the accounts.

In the second section, the author details the various methods used to collect and analyze data. This includes both primary and secondary research techniques. The primary research involved direct observation and interviews with key stakeholders, while secondary research focused on reviewing existing literature and industry reports.

The third section presents the findings of the study. It highlights several key trends and patterns observed in the data. For example, there was a significant increase in the use of digital services over the past few years, which has led to a shift in consumer behavior. Additionally, the study found that customer loyalty programs are becoming increasingly important for businesses looking to retain their market share.

Finally, the document concludes with a series of recommendations for future research and practical applications. It suggests that further studies should be conducted to explore the long-term effects of digitalization on the economy. On a practical level, businesses are advised to invest in digital marketing strategies and to regularly update their customer loyalty programs to stay competitive in the market.



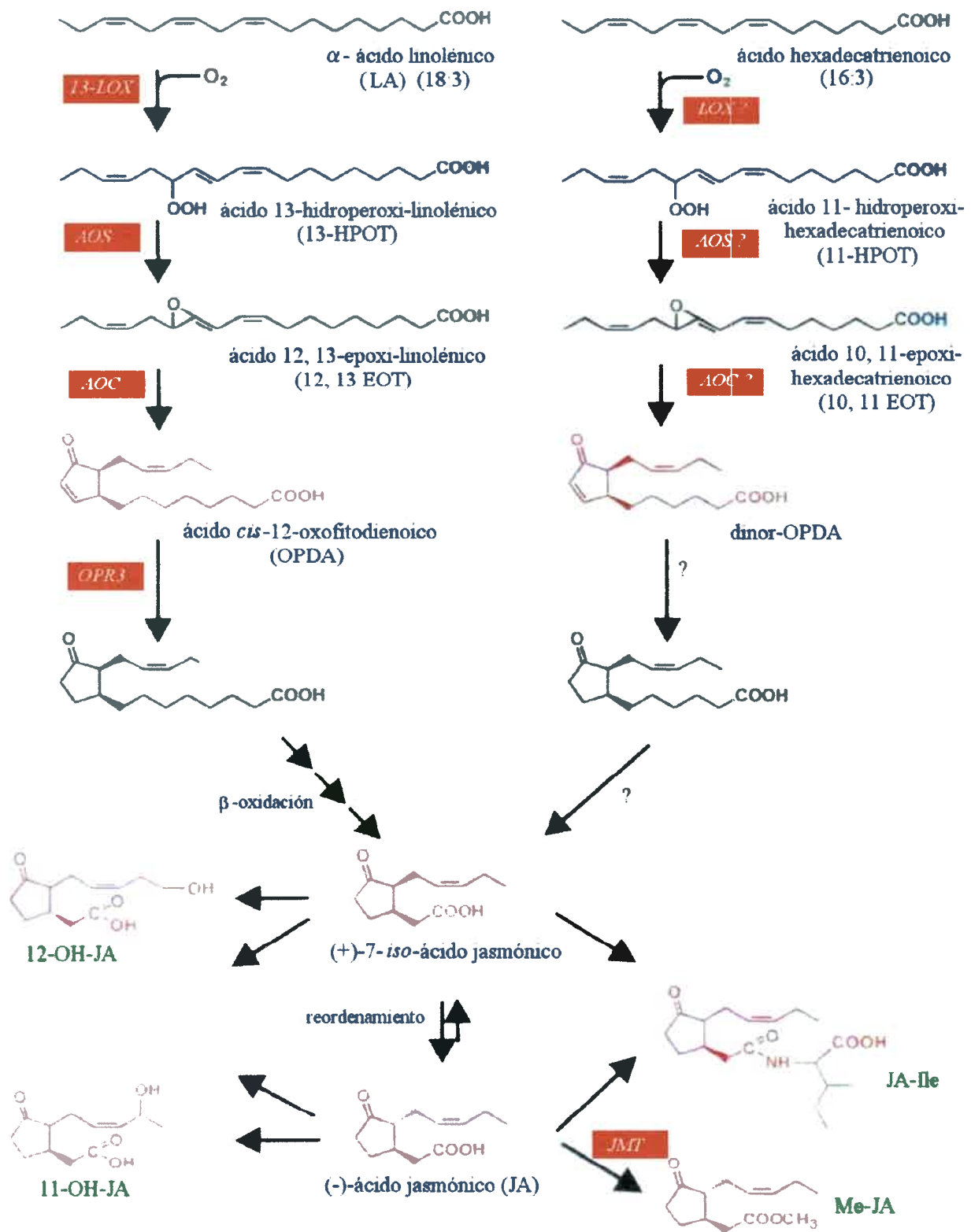


Fig. 9. **Biosíntesis del ácido jasmónico y sus derivados.** Los signos de interrogación indican que no existe evidencia experimental para estos pasos. Adaptada de Wasternack y Hause, 2002; Hause y col., 2003).

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry should be supported by a valid receipt or invoice. This not only helps in tracking expenses but also ensures compliance with tax regulations. The document further states that regular audits are essential to identify any discrepancies or errors in the accounting process.

2. The second part of the document focuses on the role of the accounting department in providing timely and accurate financial information to management. It highlights that the department should maintain a close relationship with other departments to ensure that all financial data is up-to-date and reflects the current state of the organization. The document also mentions that the accounting department should provide regular reports to management, including the balance sheet, income statement, and cash flow statement.

3. The third part of the document discusses the importance of maintaining a strong internal control system. It states that a well-designed internal control system can help prevent fraud, reduce the risk of errors, and ensure the accuracy of financial statements. The document further mentions that the internal control system should be regularly reviewed and updated to reflect changes in the organization's operations and risk profile.

4. The fourth part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry should be supported by a valid receipt or invoice. This not only helps in tracking expenses but also ensures compliance with tax regulations. The document further states that regular audits are essential to identify any discrepancies or errors in the accounting process.

5. The fifth part of the document focuses on the role of the accounting department in providing timely and accurate financial information to management. It highlights that the department should maintain a close relationship with other departments to ensure that all financial data is up-to-date and reflects the current state of the organization. The document also mentions that the accounting department should provide regular reports to management, including the balance sheet, income statement, and cash flow statement.

6. The sixth part of the document discusses the importance of maintaining a strong internal control system. It states that a well-designed internal control system can help prevent fraud, reduce the risk of errors, and ensure the accuracy of financial statements. The document further mentions that the internal control system should be regularly reviewed and updated to reflect changes in the organization's operations and risk profile.

Como se mencionó anteriormente JA puede ser metilado en citoplasma formando Me-JA. Excepto los pasos de β -oxidación, que tienen lugar en peroxisomas, todas las enzimas específicas para la biosíntesis de JA tienen localización cloroplástica, y han sido clonadas (Fig. 10). En *Arabidopsis* entre los seis cDNAs que codifican para LOXs existen varios involucrados en la biosíntesis de JA (Feussner y Wasternack, 2002). AOS es codificada por un único gen (Laudert y col., 1996); mientras que para AOC se han identificado cuatro genes (Stenzel y col., 2003). Estas tres enzimas poseen en su secuencia un péptido de tránsito para el importe cloroplástico (Stenzel y col., 2003). Sin embargo, OPR3 ha sido detectada inmunocitológicamente en peroxisomas (Strassner y col., 2002). Por lo tanto, la biosíntesis de JA ocurre en tres compartimentos celulares diferentes: la conversión de LA a OPDA se localiza en cloroplasto, la reducción de OPDA a OPC-8:0 mediada por OPR1 y OPR2 ocurre en citoplasma, y finalmente los pasos de β -oxidación ocurren en peroxisomas (Schaller, 2001).

4.2.1. Membranas fosfolipídicas: fuentes de JAs

Se conoce que las membranas celulares además de constituir el sitio de percepción y transmisión de diferentes señales, son una importante fuente de moléculas señal, de las cuales derivan numerosos ácidos grasos (FA). Estas moléculas pueden actuar como mediadores intracelulares pero también como señales extracelulares e inclusive como señales para la comunicación entre organismos (Weber, 2002).

En plantas, especialmente las membranas cloroplásticas, constituyen una fuente muy rica de ácido linolénico esterificado en glicerolípidos y fosfolípidos (Farmer y Ryan, 1992); como así también de diferentes compuestos señal, tales como: inositol fosfato (IP₃), diacilglicerol (DAG) y ácido fosfatídico (PA); los cuales son generados principalmente por acción de las fosfolipasas C y D (Munnik, 2001).

Los PUFAs esterificados al esqueleto glicerol de las membranas celulares y de los lípidos de reserva, funcionan no sólo en la movilización de energía, sino también en la generación de numerosos compuestos señal, entre ellos: JAs y octadecanoicos.

El pool de LA (18:3) para la síntesis de JA puede provenir de diferentes vías. Una de ellas involucra la desaturación de los FA, la cual es llevada a cabo por enzimas asociadas a membrana (Shanklin y Cahoon, 1998). En cloroplastos la conversión de ácido oleico (18:1) a LA (18:3) ocurre en galactolípidos; mientras que en retículo

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. This includes not only sales and purchases but also any other financial activities that may occur during the course of the business. Proper record-keeping is essential for determining the true financial position of the company at any given time.

2. The second part of the document deals with the various methods used to calculate the cost of goods sold (COGS). This is a critical component of the gross profit calculation and can have a significant impact on the overall profitability of the business. The document outlines the different methods available and provides guidance on how to choose the most appropriate one for your specific situation.

3. The third part of the document focuses on the calculation of net income. This is the final result of the accounting process and represents the amount of profit that is available to the owners of the business. The document provides a detailed breakdown of the various expenses that must be deducted from the gross profit to arrive at the net income figure.

4. The fourth part of the document discusses the importance of reconciling the accounting records with the bank statements. This is a crucial step in the accounting process that helps to ensure the accuracy of the financial statements. The document provides a step-by-step guide to how to perform a bank reconciliation and explains the significance of any discrepancies that may be identified.

5. The fifth part of the document deals with the preparation of the financial statements. This is the final step in the accounting process and involves the compilation of all the information gathered during the course of the business into a set of financial statements. The document provides a detailed explanation of the various components of these statements and offers advice on how to present them in a clear and concise manner.

6. The sixth part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. This includes not only sales and purchases but also any other financial activities that may occur during the course of the business. Proper record-keeping is essential for determining the true financial position of the company at any given time.

7. The seventh part of the document deals with the various methods used to calculate the cost of goods sold (COGS). This is a critical component of the gross profit calculation and can have a significant impact on the overall profitability of the business. The document outlines the different methods available and provides guidance on how to choose the most appropriate one for your specific situation.

8. The eighth part of the document focuses on the calculation of net income. This is the final result of the accounting process and represents the amount of profit that is available to the owners of the business. The document provides a detailed breakdown of the various expenses that must be deducted from the gross profit to arrive at the net income figure.

9. The ninth part of the document discusses the importance of reconciling the accounting records with the bank statements. This is a crucial step in the accounting process that helps to ensure the accuracy of the financial statements. The document provides a step-by-step guide to how to perform a bank reconciliation and explains the significance of any discrepancies that may be identified.

10. The tenth part of the document deals with the preparation of the financial statements. This is the final step in the accounting process and involves the compilation of all the information gathered during the course of the business into a set of financial statements. The document provides a detailed explanation of the various components of these statements and offers advice on how to present them in a clear and concise manner.

11. The eleventh part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. This includes not only sales and purchases but also any other financial activities that may occur during the course of the business. Proper record-keeping is essential for determining the true financial position of the company at any given time.

12. The twelfth part of the document deals with the various methods used to calculate the cost of goods sold (COGS). This is a critical component of the gross profit calculation and can have a significant impact on the overall profitability of the business. The document outlines the different methods available and provides guidance on how to choose the most appropriate one for your specific situation.

13. The thirteenth part of the document focuses on the calculation of net income. This is the final result of the accounting process and represents the amount of profit that is available to the owners of the business. The document provides a detailed breakdown of the various expenses that must be deducted from the gross profit to arrive at the net income figure.

14. The fourteenth part of the document discusses the importance of reconciling the accounting records with the bank statements. This is a crucial step in the accounting process that helps to ensure the accuracy of the financial statements. The document provides a step-by-step guide to how to perform a bank reconciliation and explains the significance of any discrepancies that may be identified.

15. The fifteenth part of the document deals with the preparation of the financial statements. This is the final step in the accounting process and involves the compilation of all the information gathered during the course of the business into a set of financial statements. The document provides a detailed explanation of the various components of these statements and offers advice on how to present them in a clear and concise manner.

endoplásmico, fosfatidilcolina es el lípido principal para la formación del ácido trienoico (Ohlrogge y Browse, 1995). La conversión del FA dienoico (16:2 y 18:2) a trienoico (16:3 y 18:3) es catalizada por ω -3 ácido grasos desaturasas (León y Sánchez-Serrano, 1999) y se activa bajo daño mecánico (Conconi y col., 1996).

Se presume que la liberación de LA de las membranas lipídicas a través de la acción de lipasas podría ser gatillada por señales locales o sistémicas, tales como oligogalacturónidos, quitosano, sistemina (Farmer y Ryan, 1992; Mueller y col., 1993) o “daño mecánico” (Conconi y col., 1996; Narváez-Vásquez y col., 1999). Por lo tanto, la liberación de LA, posiblemente por actividad de fosfolipasa A (PLA), podría ser la reacción inicial para la generación de metabolitos de la vía LOX. Incrementos en actividad PLA han sido encontrados previamente a aumentos de las oxilipinas endógenas luego de la elicitación de diversos tipos de cultivos de células en suspensión (Royo y col., 1996; Göbel y col., 2001), bajo daño mecánico a hojas de tomate (Narváez-Vásquez y col., 1999), y en hojas de tabaco infectadas con el virus del mosaico de tabaco (Dhondt y col., 2000). Sin embargo, debido a la localización de los enzimas de la biosíntesis de JA exclusivamente en cloroplastos, LA sería liberado dentro del cloroplasto y no en la membrana plasmática, donde se asume que PLA₂ se localiza. Otra enzima que podría liberar LA podría ser una fosfolipasa D (PLD), la cual genera PA y éste activa la acil hidrolasa PLA posiblemente localizada en membrana plasmática (Lee y col., 1997). Recientemente, se ha clonado una PLD inducida por daño mecánico (Wang y col., 2000), la cual media la activación sistémica de la 13-LOX *AtLOX2* y de una AOS en *A. thaliana*.

Además, Feussner y col. (1995) describieron la presencia de LOX en cuerpos lipídicos, la cual oxida ácidos grasos previo a su posterior metabolismo. En diversas especies de plantas se ha observado una preferencia de fosfolipasas por ácidos grasos oxigenados (Banas y col., 1992; Bafor y col., 1993). Por lo tanto, la oxidación de ácidos grasos durante elevada irradiancia, exposición a ozono, o como consecuencia del estallido oxidativo asociado a respuestas de defensa (Bradley y col., 1992) podría estimular la actividad de fosfolipasas o acilhidrolasas inespecíficas para la liberación de ácidos grasos oxidados para la biosíntesis de JA. De este modo, LOXs solubles podrían ser transferidas mediante vesículas a las membranas para actuar sobre los PUFAs de glicerolípidos o FAs de fosfolípidos liberados por fosfolipasas (Fornaroli y col., 1999). Se conoce que la transferencia de LA entre las células es llevada a cabo

Faint, illegible text covering the majority of the page, likely bleed-through from the reverse side of the paper.

por proteínas que transfieren lípidos, localizadas en el espacio extracelular (Sterk y col., 1991).

Modelos actuales postulan que moléculas señales interactúan con receptores presentes en la membrana plasmática induciendo la activación de fosfolipasas, las cuales liberan el LA requerido para la biosíntesis de JAs. Pero el hecho de que las primeras enzimas de la biosíntesis de JAs se localizan en plástidos (Blée y Joyard, 1996) sugiere que deben existir mecanismos que liberen LA de la membrana al plástido, o alternativamente la señal percibida debe ser transmitida a los plástidos para la liberación de LA en esta organela (Creelman y Mullet, 1997).

En *Arabidopsis thaliana*, la fuente de ácidos grasos para la biosíntesis de JAs proviene de dos vías: una a partir de MGDG (16:3 y 18:3) (Stelmach y col., 2001), y la otra a partir de PC (18:3) sustrato de la lipasa DAD1 (Ishiguro y col., 2001). Estos últimos autores encontraron que una proteína DAD1 cloroplástica es una PLA₁ (hidroliza los fosfolípidos en la posición *sn*-1 del esqueleto glicerol). La mutante *dad1*, defectuosa en esta enzima, es deficiente de JA, sugiriendo un origen de LA cloroplástico, el cual podría ser liberado por PLA₁ para la biosíntesis de JA (Ishiguro y col., 2001). Por lo tanto, coincide con la localización cloroplástica de las enzimas que intervienen en la biosíntesis de JA.

Por otra parte, Stelmach y col. (2001) demostraron que lípidos presentes en hojas de *Arabidopsis* pueden liberar OPDA cuando son sometidos a hidrólisis alcalina mediada por lipasas específicas de la posición *sn*-1 pero no de la posición *sn*-2. Estos autores determinaron que la estructura corresponde a *sn*1-*O*-(12-oxofitodienoil)-*sn*2-*O*-(hexadecatrienoil)-monogalactosildiglicérido (MGDG-*O*), y su nivel se incrementa bajo daño mecánico. En *A. thaliana*, la principal fracción de OPDA se encuentra esterificada en la posición *sn*-1 del MGDG. Una gran proporción de este galactolípido tiene LA en posición *sn*-1. El MGDG-*O* podría ser generado a partir de enzimas similares a LOX y AOS que actúen sobre MGDG (Stelmach y col., 2001).

Por lo tanto, debido a que la biosíntesis de OPDA ocurre en cloroplasto, la principal fuente de LA para la biosíntesis de JA podrían ser los galactolípidos MGDG y DGDG (Simpson y Gardner, 1995). Además, estos lípidos se localizan principalmente en cloroplastos y son degradados luego del “daño mecánico” (Conconi y col., 1996) ó estimulación mecánica producida durante el enrollamiento de zarcillos (Weiler y col., 1993).

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions and activities related to the business.

2. It is essential to ensure that all financial data is properly documented and organized for easy access and review.

3. Regular audits and reconciliations should be performed to identify any discrepancies or errors in the accounting records.

4. The use of modern accounting software can significantly streamline the process and reduce the risk of human error.

5. It is also important to establish clear policies and procedures regarding the handling and storage of financial information.

6. Finally, ongoing training and education for staff involved in the accounting process is crucial for maintaining high standards of accuracy and compliance.

7. By following these guidelines, businesses can ensure the integrity and reliability of their financial records, which is essential for informed decision-making and long-term success.

8. The second part of the document provides a detailed overview of the various accounting methods and techniques used in the industry.

9. This section covers topics such as double-entry bookkeeping, cost accounting, and budgeting, providing a comprehensive understanding of each.

10. It also discusses the importance of maintaining accurate records of assets, liabilities, and equity, and how these are reflected in the financial statements.

11. The document further explores the role of the accounting department in providing valuable insights and analysis to management, helping them make strategic decisions.

12. Additionally, it highlights the importance of staying up-to-date with the latest accounting standards and regulations to ensure compliance and avoid penalties.

13. The final part of the document offers practical tips and best practices for implementing effective accounting systems and processes within a business.

14. These include recommendations on how to choose the right accounting software, how to train staff, and how to conduct regular audits and reconciliations.

15. Overall, this document serves as a valuable resource for anyone looking to improve their accounting practices and ensure the financial health of their business.

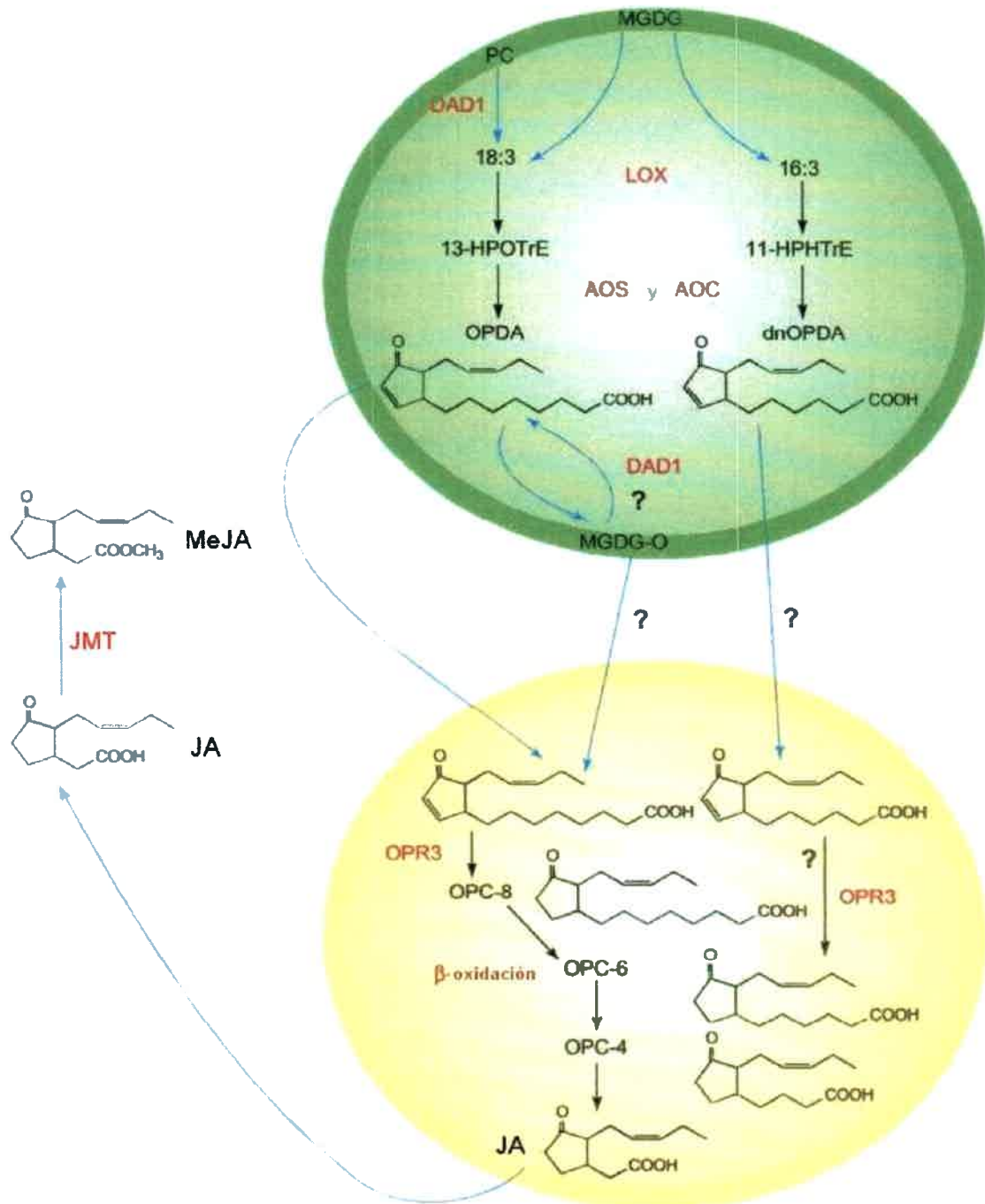
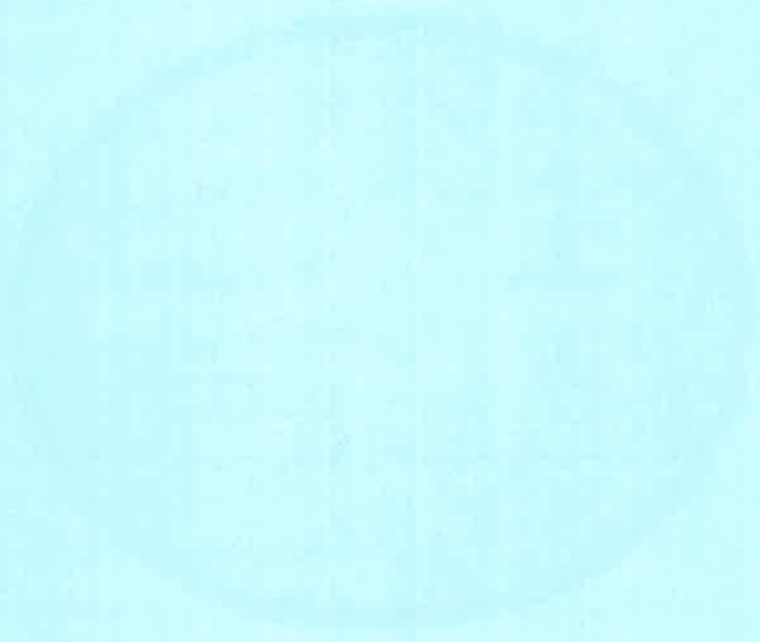


Fig. 10. **Biosíntesis y localización subcelular de JA y Me-JA en *Arabidopsis*.** En rojo: pasos enzimáticos; en azul: flujo de JAs; signos de interrogación: no existe evidencia experimental para estos pasos (Weber, 2002).



4.3. Participación de JAs en la tuberización de papa

La existencia de un estímulo inductor de la formación de tubérculo, generado en hojas bajo condiciones de día corto, fue sugerida por Gregory (1956) basado sobre experimentos con injertos. Posteriormente, Koda y Okazawa (1988) empleando cultivos de segmentos de tallo uninodales de papa, demostraron la presencia en hojas de dos compuestos acídicos con actividad inductora de tubérculo. Las actividades de estos compuestos en hojas se incrementaba bajo condiciones de días cortos, mientras que permanecían constantes bajo días largos. Uno de ellos fue aislado de las hojas por Koda y col. (1988), e identificado como glucósido del ácido tuberónico (TAG) por Yoshihara y col., (1989), el cual presentó una estructura química similar a la de JA. Más tarde, JA y Me-JA mostraron poseer actividad inductora de formación de tubérculo en papa (Koda y col., 1991; Pelacho y Mingo-Castel, 1991).

La aglicona del TAG es el 12-OH-JA, y fue denominado ácido tuberónico (TA). Por otra parte, Helder y col. (1993) demostraron que el fotoperíodo afecta la hidroxilación de JA en hojas de plantas de papa (*Solanum demissum* Lindl.). Bajo condiciones fotoperiódicas de días cortos tanto 11-OH-JA como 12-OH-JA se encontraron en hojas de las plantas de papa que habían formado tubérculos; la concentración de 11-OH-JA fue superior a la de 12-OH-JA. Por el contrario, bajo días largos ninguno de estos compuestos se detectaron, y la tuberización no ocurrió. En base a estos resultados los autores sugirieron que 11-OH-JA podría desempeñar un papel más importante que 12-OH-JA en la tuberización. Sin embargo, independientemente de la longitud del día, el TAG es sintetizado en hojas y transportado a los demás órganos de la planta; tal lo demostrado por Yoshihara y col. (1996). Estos autores informaron que aplicaciones exógenas de [2-¹⁴C]-JA a hojas de *Solanum tuberosum* L. crecidas bajo condiciones de días cortos, produjeron la conversión de JA a TAG, encontrándose este último preferentemente en estolones bajo días cortos luego de 10 días de tratamiento; mientras que TAG se acumuló preferentemente en flores bajo días largos. Por lo tanto, las formas hidroxiladas de JA promueven tuberización, mientras que el TAG conjuntamente con el TA (Koda, 1992), altamente solubles en agua, representarían formas de transporte.

Estudios realizados por Matssura y col. (2001) estimaron por primera vez el contenido endógeno del glucósido de 11-OH-JA en pequeñas hojas desarrolladas a partir de segmentos de tallos uninodales de *Solanum tuberosum* L. cv. Irish Cobbler.

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that proper record-keeping is essential for the integrity of the financial system and for the ability to detect and prevent fraud. The text notes that records should be kept for a minimum of seven years and should be accessible to all authorized personnel.

2. The second part of the document outlines the specific procedures for recording transactions. It states that all transactions must be recorded in a timely and accurate manner, and that the recording process should be subject to regular audits. The text also mentions that the recording process should be designed to minimize the risk of error and to ensure that all transactions are properly classified and coded.

3. The third part of the document discusses the role of the accounting department in the recording process. It notes that the accounting department is responsible for ensuring that all transactions are recorded in accordance with the applicable accounting standards and that the recording process is subject to regular audits. The text also mentions that the accounting department should be responsible for maintaining the accuracy and integrity of the financial records.

4. The fourth part of the document discusses the importance of maintaining the confidentiality of financial records. It states that financial records are often considered sensitive information and that their disclosure to unauthorized personnel could result in significant financial damage. The text notes that all personnel who have access to financial records should be trained in the proper handling of such information and that all records should be stored in a secure location.

5. The fifth part of the document discusses the importance of maintaining the accuracy and integrity of financial records. It states that financial records are often used to make important business decisions and that any errors or inaccuracies in the records could result in significant financial damage. The text notes that all personnel who have access to financial records should be trained in the proper handling of such information and that all records should be stored in a secure location.

Además, cabe destacar que JA induce tuberización en otras especies, tales como batata (Koda y Kikuta, 1991) y aguaturma o pataca (Koda y col., 1994).

4.3.1. Mecanismos de inducción de tuberización mediados por JAs

Como se describió previamente, la tuberización de papa se inicia por la expansión de las células de la región subapical del estolón; en esta inducción de expansión celular participan los JAs. Si bien TA, TAG, JA y Me-JA mostraron poseer actividad inductora de tuberización en experimentos *in vitro* (Koda y col., 1991), sólo JA y Me-JA inducen expansión celular en tejido medular de discos de tubérculos de papa maduros, cultivados *in vitro* y en medio suplementado con JA. Dicha expansión celular es necesaria para la tuberización (Takahashi y col., 1994).

Entre las posibles causas de inducción de expansión celular mediada por JA se mencionan el incremento en la presión osmótica debido a la acumulación de sacarosa (Takahashi y col., 1995), y los cambios en la composición de la pared celular, resultantes de un incremento en la extensibilidad de la misma (Taiz, 1984). Takahashi y col. (1995) observaron en discos de papa acumulación de sacarosa previa y durante la expansión celular inducida por JA, sugiriendo que dicha acumulación conduce a la expansión celular a través de un incremento en la presión osmótica en el interior de las células. Además, estos autores encontraron previo a la expansión celular, un incremento en los niveles de polisacáridos de pared celular tales como celulosa, hemicelulosa y pectina.

Por otra parte, inhibidores de la organización del citoesqueleto tales como colchicina e isopropil N-fenilcarbamato inhiben la expansión celular inducida por JA y la citocalasina (inhibidor de la organización de los microfilamentos) inhibe la expansión celular en discos de papa (Takahashi y col., 1995).

Estudios previos realizados por Matsuki y col. (1992) habían informado que Me-JA producía desorganización de MTs en células en suspensión de papa. El mismo efecto había sido informado para células de tabaco BY-2 tratadas con Me-JA (Abe y col., 1990). Posteriormente, Shibaoka (1994) informó la participación de JA en la reorientación de los microtúbulos corticales, y por consiguiente en el control de la dirección de la expansión celular. Observó en casi todas las células de la región subapical del estolón MTs orientados transversalmente. Cuando el crecimiento lateral

1. The first part of the document is a list of names and their corresponding dates.

2. The second part of the document is a list of names and their corresponding dates.

3. The third part of the document is a list of names and their corresponding dates.

4. The fourth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

5. The fifth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

6. The sixth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

7. The seventh part of the document is a list of names and their corresponding dates.

8. The eighth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

9. The ninth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

10. The tenth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

11. The eleventh part of the document is a list of names and their corresponding dates.

12. The twelfth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

13. The thirteenth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

14. The fourteenth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

15. The fifteenth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

16. The sixteenth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

17. The seventeenth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

18. The eighteenth part of the document is a list of names and their corresponding dates.

del estolón cesó, tuvo lugar el ensanchamiento característico de las primeras etapas de tuberización, y los MTs se ubicaron longitudinalmente respecto al eje del estolón.

Por lo tanto, la tuberización *in vitro* en respuesta a JA, así como la expansión de células de tubérculos de papa inducida por JA, están acompañadas por la misma orientación de los MTs. De este modo, JA parece ejercer su efecto inductor sobre la tuberización a través de la expansión de las células en el parénquima amiláceo de los tubérculos, involucrando la reorientación de los microtúbulos corticales (Koda, 1997) (Fig. 11).

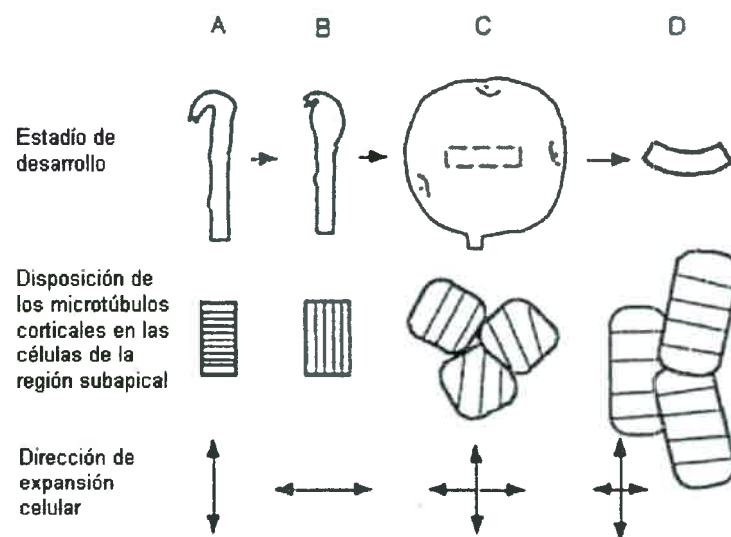


Fig. 11. **Cambios en la orientación de los microtúbulos corticales durante el proceso de tuberización, y expansión de células del tubérculo inducida por JA.** A, estolón; B, estolón ensanchado; C, tubérculo; D, disco de tejido ensanchado por JA (Koda, 1997).

4.3.2. JAs endógenos encontrados en papa

En *Solanum tuberosum* L. la presencia de JA endógeno en raíces, estolones y follaje fue informada por Abdala y col. (1996). Posteriormente, Castro y col. (1999) cuantificaron JA endógeno en yemas de tubérculos encontrando que las mismas contenían elevadas concentraciones de este compuesto. A fin de analizar el papel fisiológico de JA en las yemas, aplicaron exógenamente este compuesto a yemas

...the ... of ...
...the ... of ...
...the ... of ...
...the ... of ...
...the ... of ...

...the ... of ...
...the ... of ...
...the ... of ...
...the ... of ...
...the ... of ...

...the ... of ...
...the ... of ...
...the ... of ...
...the ... of ...
...the ... of ...

aisladas y cultivadas *in vitro* y observaron que JA inducía la expansión de las células meristemáticas durante el proceso de transformación de las yemas a brotes.

Recientemente, cambios en el nivel endógeno de JAs durante los estadios ontogénicos de plantas de papa crecidas en invernáculo han sido informados por Abdala y col. (2002). En hojas detectaron un nivel elevado de JA al inicio del crecimiento de la planta, mientras que en raíces el máximo contenido fue observado al inicio de la formación de los tubérculos. En estolones que comenzaron a tuberizar encontraron un contenido importante de JA.

4.4. Jasmonatos y octadecanoicos en otros procesos de desarrollo

Entre los procesos del desarrollo modulados por JAs y octadecanoicos se mencionan: la inhibición de germinación y desarrollo de plántulas, la estimulación de enrollamiento de zarcillos, la producción de polen viable (desarrollo de flores), y la promoción de senescencia de hojas (Wasternack y Hause, 2002).

Los JAs ejercen efectos tanto inhibitorios como promotores de la germinación de semillas; debido a que inhiben la germinación de semillas no dormidas; mientras que la germinación de semillas dormidas es estimulada (Parthier y col., 1992). Los niveles endógenos de JAs exhiben cambios durante la embriogénesis, desarrollo de plántula y germinación. En soja, los niveles de JA en el estadio de plántula son mayores al de semillas en desarrollo (Creelman y Mullet, 1995); correlacionándose posiblemente con la movilización de las reservas de la semilla (Creelman y Mullet, 1997). Durante el desarrollo de plántula se observó inhibición del crecimiento de raíz producido por JA (Yamane y col., 1982).

Una movilización de nutrientes ocurre durante la formación de la semilla, y durante la germinación; seguido por un incremento en el almacenamiento de carbono y nitrógeno bajo la forma de almidón, fructanos y proteínas durante el desarrollo de la planta. Debido a que los niveles de JAs son elevados en órganos de reserva, se ha sugerido un papel de JA en la acumulación de proteínas de reserva (Creelman y Mullet, 1997).

Por otra parte, se ha observado que en el enrollamiento de zarcillos en Cucurbitaceae interviene Me-JA y OPDA (Falkenstein y col., 1991; Weiler y col., 1994; Blechert y col., 1999).

Faint, illegible text, likely bleed-through from the reverse side of the page. The text is mirrored across the page and is too light to transcribe accurately.

Durante largo tiempo se asumió un papel de JA en el desarrollo floral, debido a su nivel relativamente elevado de JA en tejidos reproductivos (Creelman y Mullet, 1997). Además, Miersch y col. (1998) encontraron JAs en el polen maduro. En flores de tomate, OPDA, JA, conjugados con aminoácidos, y ésteres metílicos se acumulan en elevados niveles, inclusive excediendo al encontrado en hojas, y se encuentran en proporciones características dentro del órgano floral (Hause y col., 2000).

Otro papel importante de los JAs está relacionado con la fertilidad masculina, como lo mostró la mutante *coil* de *A. thaliana*, la cual es insensible a coronatina y a JA, y no produce polen viable. Por lo tanto, *coil* es macho estéril y no puede restablecerse por aplicación de JA (Feys y col., 1994). Mutantes deficientes en JA tales como: la triple mutante *fad3-2fad7-2fad8* (McConn y Browse, 1996), *dad1* (Ishiguro y col., 2001), *opr3* (Stintzi y Browse, 2000) y la *dde1* (Sanders y col., 2000), también son defectuosas en el desarrollo del polen. Por lo tanto, JA podría funcionar como señal en la elongación de los filamentos de la antera, maduración de polen viable y control del momento de dehiscencia de la antera.

La maduración de frutos estimulada por JAs en tomate y manzana parece ocurrir conjuntamente con la producción del etileno (Czapski y Saniewski, 1992).

Por último, durante la senescencia (estadio final de desarrollo) la aplicación exógena de JAs a hojas produjo disminución en la expresión de genes involucrados en la fotosíntesis (Weidhase y col., 1987), y la consiguiente pérdida de clorofila manifestada por clorosis, siendo indicativa de la senescencia foliar (Parthier, 1991).

5. Señales de transducción: mediadoras de diferentes respuestas celulares

Numerosos eventos morfogénicos de las plantas son influenciados por múltiples reguladores del crecimiento, como se evidencia en las señales hormonales para tuberización; esto sugiere que las respuestas resultan de interacciones complejas de moléculas señales endógenas que “disparan” un complejo sistema de transducción de señal.

A lo largo del ciclo de vida, la planta entera al igual que sus células responden a diversas señales que alteran su fisiología, morfología y desarrollo. Estímulos externos (luz, temperatura, humedad, viento, gases, nutrientes minerales, microorganismos del

1. The first part of the document is a list of names and addresses of the members of the committee.

2. The second part of the document is a list of names and addresses of the members of the committee.

3. The third part of the document is a list of names and addresses of the members of the committee.

4. The fourth part of the document is a list of names and addresses of the members of the committee.

5. The fifth part of the document is a list of names and addresses of the members of the committee.

suelo) como internos (hormonas, estado hídrico ó turgencia celular, azúcares, péptidos, etc.) transmiten información determinando una respuesta específica (Trewavas, 2000).

Las señales externas son percibidas en la superficie celular por receptores proteicos o a través de cambios en el potencial de membrana. La unión de la señal al receptor activa enzimas efectoras localizadas en membrana, como por ej. fosfolipasas, mediante interacción indirecta con proteínas G, las cuales transducen la información hacia el interior celular a través de segundos mensajeros, y conducen a una respuesta celular determinada (Munnik y col., 1998; Munnik, 2001).

Actualmente, diversos procesos de señal en plantas, tanto hormonales como de respuesta a estrés, se asocian con la activación de fosfolipasas tales como fosfolipasa D (PLD), fosfolipasa C (PLC) y fosfolipasa A₂ (PLA₂) (Chapman, 1998; Munnik y col., 1998; Wang, 2001). Estas enzimas catalizan la hidrólisis de fosfolípidos generando lípidos y mensajeros derivados de los mismos (Wang y col., 2002). La producción de mensajeros lipídicos, tales como ácido fosfatídico (PA), diacilglicerol (DAG), lisofosfolípidos (LFLs) ó ácidos grasos libres, puede atribuirse a la acción de múltiples fosfolipasas (Lee y col. 1997; Ryu y Wang, 1998; van der Luit y col., 2000; Wang, 2000). A menudo más de una fosfolipasa está involucrada en una respuesta celular (Fan y col., 1997), ocurriendo “crosstalk” entre varias de estas enzimas en la mediación de las funciones celulares (Wang y col., 2002).

5.1. Síntesis de glicerolípidos en plantas

Los glicerolípidos, principales componentes de las membranas biológicas, incluyen a fosfolípidos (FLs), galactolípidos, sulfolípidos y triacilglicerol. Todas estas moléculas contienen ácidos grasos esterificados al esqueleto glicerol. Los glicosilglicéridos (galactolípidos y sulfolípidos) son los constituyentes principales de membranas cloroplásticas de tejidos fotosintéticos como también de plástidos de tejidos no fotosintéticos, y presentan un elevado contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs). El ácido linolénico (18:3) puede constituir un 90% del total de PUFAs presentes en glicolípidos en tejido fotosintético (Harwood, 1997; Somerville y col., 2000).

La principal vía de producción de glicerolípidos en plantas superiores es la “vía eucariota” que tiene lugar en retículo endoplásmico; mientras que plantas denominadas 16:3, tales como la espinaca y *Arabidopsis*, presentan una vía adicional

Faint, illegible text covering the majority of the page, likely bleed-through from the reverse side. The text is too light to transcribe accurately.

denominada “procariota” (cloroplástica), en la cual los ácidos grasos sintetizados de *novo* en cloroplastos son utilizados para la producción de glicerolípidos. La síntesis de glicerolípidos vía eucariota se realiza a partir de ácidos grasos producidos en cloroplastos y exportados al citoplasma como ésteres CoA (Harwood, 1996; Somerville y col., 2000).

Debido a las especificidades de sustrato de aciltransferasas plastidiales, el ácido fosfatídico (PA) sintetizado vía procariota tiene 16:0 en posición *sn-2*, y en la mayoría de los casos 18:1 en posición *sn-1*. Este PA puede tener diferentes destinos metabólicos, puede ser empleado para la síntesis de fosfatidil glicerol (PG), se convierte a diacilglicerol (DAG) por PA fosfatasa localizada en membrana interna del cloroplasto, o se convierte en CDP-DAG por una fosfatidato citidiltransferasa (Miège y Maréchal, 1999; Wallis y Browse, 2002). DAG, intermediario clave en el metabolismo de glicerolípidos, puede actuar como precursor de otros lípidos cloroplásticos, tales como monogalactosil diacilglicerol (MGDG) y digalactosil diacilglicerol (DGDG) y sulfoquinovosil diacilglicerol (SQDG). Además puede ser convertido a triacilglicerol (TAG) (Miège y Maréchal, 1999) (Fig. 12).

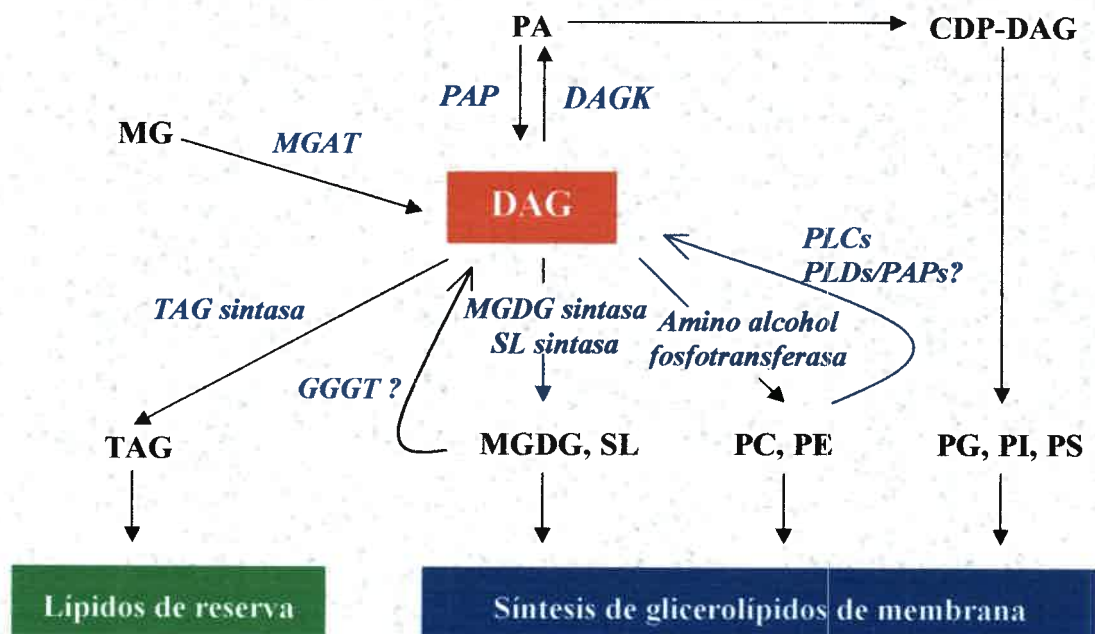


Fig. 12. **Metabolismo de DAG en plantas.** Posible producción de DAG por las enzimas galactolípido: galactolípido galactosiltransferasa (GGGT) ó PLCs, PLDs/PAPs. Adaptado de Miège y Maréchal (1999).

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions.

2. It also outlines the various methods used to collect and analyze data, including surveys and interviews.

3. The results of the study are presented in a series of tables and graphs, showing a clear trend of increasing participation over time.

4. Finally, the document concludes with a series of recommendations for future research and implementation.

5. The overall findings suggest that the program has been successful in reaching its goals and improving the lives of the participants.

6. The data also indicates that there is a need for continued support and resources to ensure the long-term success of the program.

7. The study has provided valuable insights into the challenges and opportunities of implementing such programs in the community.

8. The results of the study are consistent with previous research, which has shown that community-based programs can be highly effective.

9. The study has also identified several key factors that contribute to the success of these programs, including strong leadership and community buy-in.

10. The findings of this study will be used to inform the development of future programs and to improve the effectiveness of existing ones.

11. The study has provided a clear and concise overview of the program's impact and the challenges it has faced.

12. The results of the study are a testament to the power of community-based programs to bring about positive change.

13. The study has provided a valuable resource for anyone interested in community development and social justice.

14. The findings of this study will continue to inform the work of the organization and its partners.

15. The study has provided a clear and concise overview of the program's impact and the challenges it has faced.

16. The results of the study are a testament to the power of community-based programs to bring about positive change.

17. The study has provided a valuable resource for anyone interested in community development and social justice.

18. The findings of this study will continue to inform the work of the organization and its partners.

A diferencia de las aciltransferasas plastidiales, las localizadas en retículo endoplásmico usan como sustrato acil-CoA para producir PA altamente enriquecido en ácido grasos 18C en posición *sn-2*; mientras que 16:0 se confina a la posición *sn-1* cuando está presente. Por lo tanto, el PA formado por esta vía conduce a la producción de fosfolípidos como fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilinositol (PI), característicos de membranas extracloroplásticas. Sin embargo, el DAG contenido en PC puede regresar a la membrana cloroplástica para contribuir a la síntesis de lípidos plastídicos (Wallis y Browse, 2002).

En numerosas especies de plantas superiores, PG es el único producto de la vía procariota, y los demás lípidos cloroplásticos son sintetizados mediante la vía eucariota. Por otra parte, el ácido hexadecatrienoico (16:3) se encuentra exclusivamente en MGDG y DGDG producidos vía procariota. Estas plantas han sido llamadas 16:3 para distinguirlas de otras angiospermas cuyos galactolípidos contienen α -linolenato (plantas 18:3) (Wallis y Browse, 2002).

Cabe destacar que los primeros glicerolípidos son sintetizados a partir de grupos acilos 16:0 y 18:1, y la desaturación posterior, llevada a cabo por desaturasas unidas a membrana del cloroplasto y del retículo endoplásmico, conduce a formas altamente insaturadas (Browse y Somerville, 1991).

5.2. Biosíntesis de fosfolípidos

PA producido por la acilación secuencial del glicerol 3-fosfato por aciltransferasas, ó por actividad de fosfolipasa D (PLD), fosfolipasa C (PLC) vía DAG quinasa, tiene diversos destinos metabólicos. CDP-DAG sintasa actúa sobre PA para formar CDP-DAG, intermediario en la síntesis de fosfolípidos tales como PS, PI, PG y CL (Moore y col., 1973). PA puede ser defosforilado por una PA fosfatasa formando DAG, y así PC y PE (Kent, 1995), ó fosforilado a diacilglicerol pirofosfato (DGPP) por una PA quinasa (PAK) como mecanismo de atenuación de la señal mediada por PA (Wissing y Behrbohm, 1993; Munnik y col., 2000) (Fig. 13). Además, PA puede producir LisoPA y ácidos grasos libres (FAs) mediante la acción de PLAs (Fig. 14). Los FAs liberados (ácido linoleico y linolénico) pueden ser usados en la síntesis de octadecanoicos, conduciendo a la producción de ácido jasmónico (Gardner, 1995).

La formación de PC y PE ocurre a través de: 1- fosforilación de la base (colina o etanolamina) por quinasas, 2- transferencia de las bases fosforiladas al nucleótido

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions and activities. It emphasizes that proper record-keeping is essential for financial transparency and accountability. This section also outlines the various methods and tools used to collect and analyze data, ensuring that the information is reliable and up-to-date.

2. The second part of the document focuses on the implementation of internal controls and risk management strategies. It details how these measures are designed to prevent fraud, reduce errors, and protect the organization's assets. The text also addresses the role of management in overseeing these processes and ensuring that they are effectively integrated into the organization's operations.

3. The third part of the document discusses the importance of communication and collaboration among different departments and stakeholders. It highlights how clear communication is necessary for the successful execution of projects and the achievement of organizational goals. This section also touches upon the use of technology to facilitate communication and data sharing across the organization.

4. The fourth part of the document addresses the need for continuous improvement and innovation. It discusses how organizations can stay competitive in a rapidly changing market by embracing new technologies and methodologies. This section also emphasizes the importance of employee training and development to ensure that the workforce is equipped with the skills and knowledge needed to drive innovation.

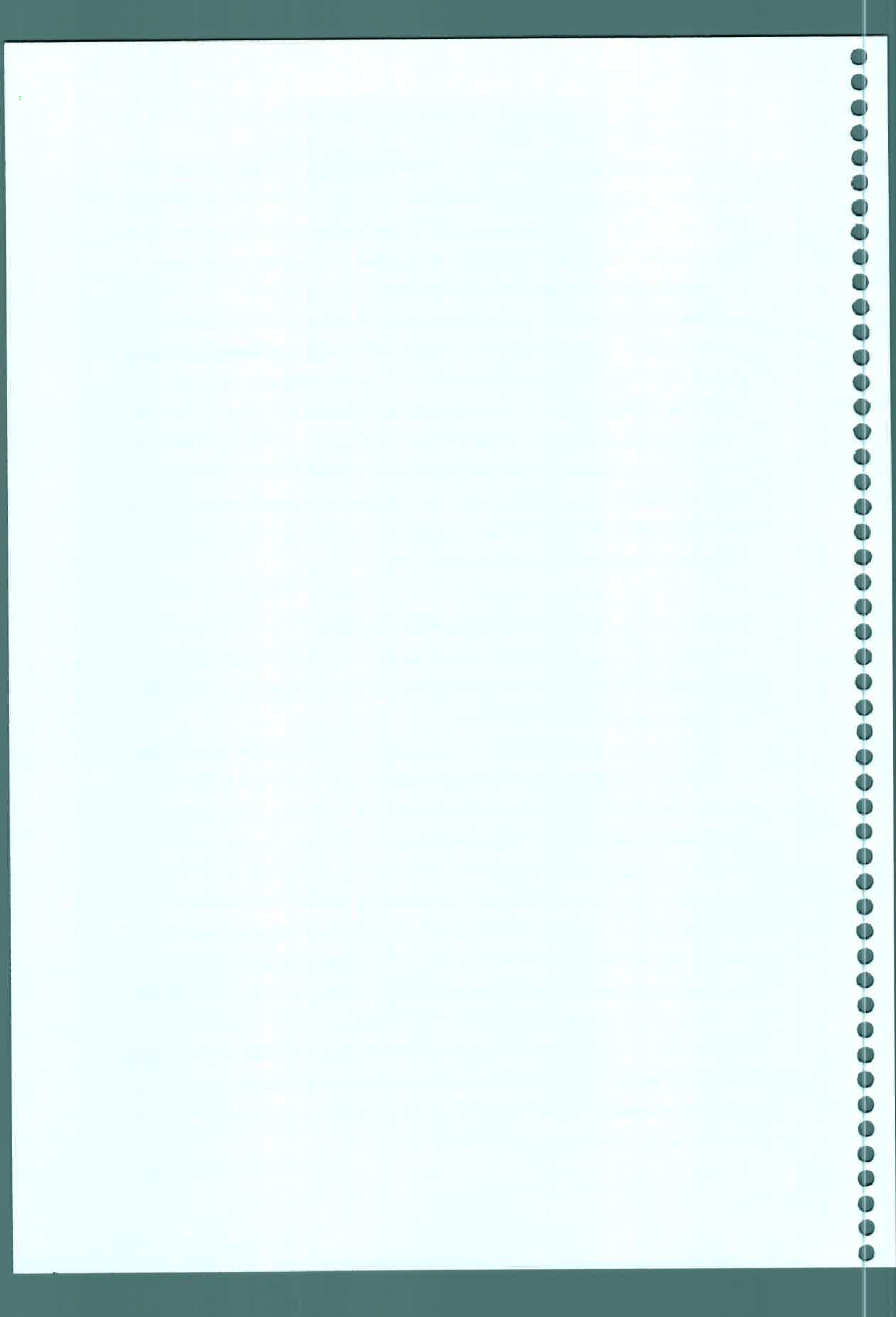
5. The fifth and final part of the document provides a summary of the key findings and recommendations. It reiterates the importance of the various strategies discussed throughout the document and offers practical advice on how to implement them. The text concludes by expressing confidence in the organization's ability to achieve its long-term goals through the effective application of these principles.

histidina produciendo CDP-colina y CDP-etanolamina respectivamente por colinafosfato y etanolaminafosfato citidiltransferasas, y 3- transferencia de las bases fosfato al DAG por colinafosfotransferasa y etanolaminafosfotransferasa. Por otro lado, CDP-DAG reacciona con el inositol produciendo PI en retículo endoplásmico, o con glicerol 3-P- para producir PG-3-P, el cual es rápidamente defosforilado originando PG en cloroplasto. Una pequeña cantidad de PG se sintetiza en mitocondria y se utiliza para la síntesis de CL. La producción de PS requiere el intercambio de una base de otro fosfolípido (generalmente PE) y serina. Además, PS puede ser decarboxilada produciendo PE, el cual puede ser metilado para producir PC. Sin embargo, en muy pocos tejidos vegetales ocurre la metilación de PE. A pesar de que PI se sintetiza en retículo endoplásmico, sus derivados fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP₂) y fosfatidilinositol 4-monofosfato (PIP) se localizan en membrana plasmática (Harwood, 1997). Para una mejor comprensión de las vías de biosíntesis de fosfolípidos y fosfoinosítidos se presenta la Fig. 13.

5.3. Composición lipídica de las membranas celulares

En plantas la composición lipídica puede variar de acuerdo al tipo celular, estadio de desarrollo, edad y factores del medio ambiente; como así también entre variedades de la misma especie (Moreau y col., 1998).

MGDG, DGDG y SL están asociados a membranas cloroplásticas; mientras que los fosfolípidos son generalmente compuestos más ubicuos, y cada uno de ellos tienen distribuciones típicas. Por ej. PA se localiza en membrana plasmática casi exclusivamente, debido a que bajos niveles de este FL han sido encontrados en tonoplasto y retículo endoplásmico. PC se encuentra en elevada proporción en mitocondria y retículo endoplásmico, y en cloroplasto se presenta únicamente en la membrana externa. Niveles elevados de PE se encuentran en membrana interna mitocondrial, retículo endoplásmico, tonoplasto y membrana plasmática; mientras que están ausentes en cloroplastos. PS se encuentra en elevada cantidad en membrana plasmática. PG es el principal fosfolípido cloroplástico en virtud de su localización casi exclusiva en esta organela. CL es el FL más específico encontrado en membrana mitocondrial interna. PI es abundante en microcuerpos y tonoplasto, pero se encuentra también en membrana plasmática, donde junto a sus derivados fosforilados actúan en transducción de señal (Moreau y col., 1998).



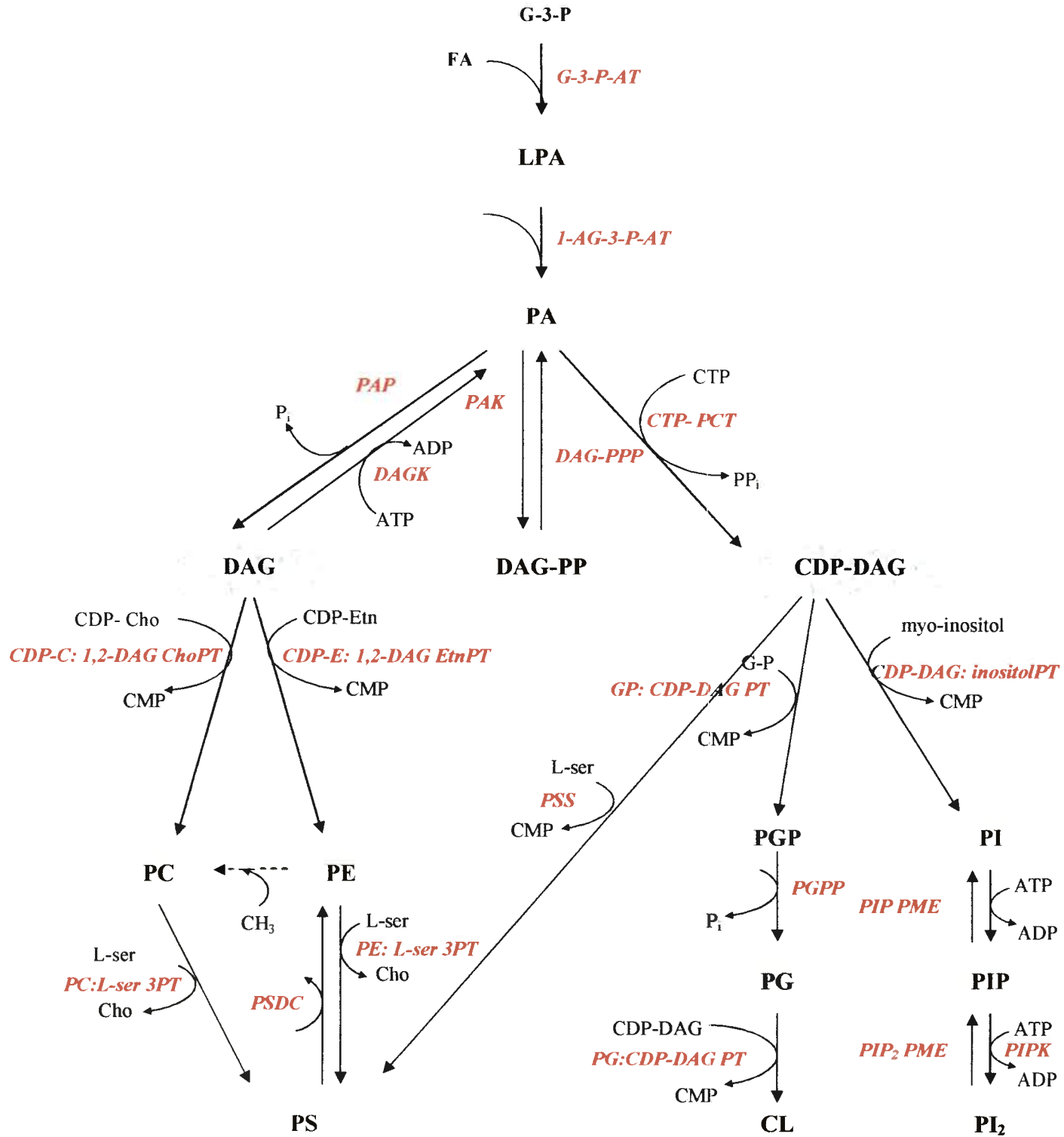


Fig. 13. Esquema de vías de biosíntesis de fosfolípidos y fosfoinosítidos.



5.4. Ocurrencia de fosfolípidos en tubérculos de papa

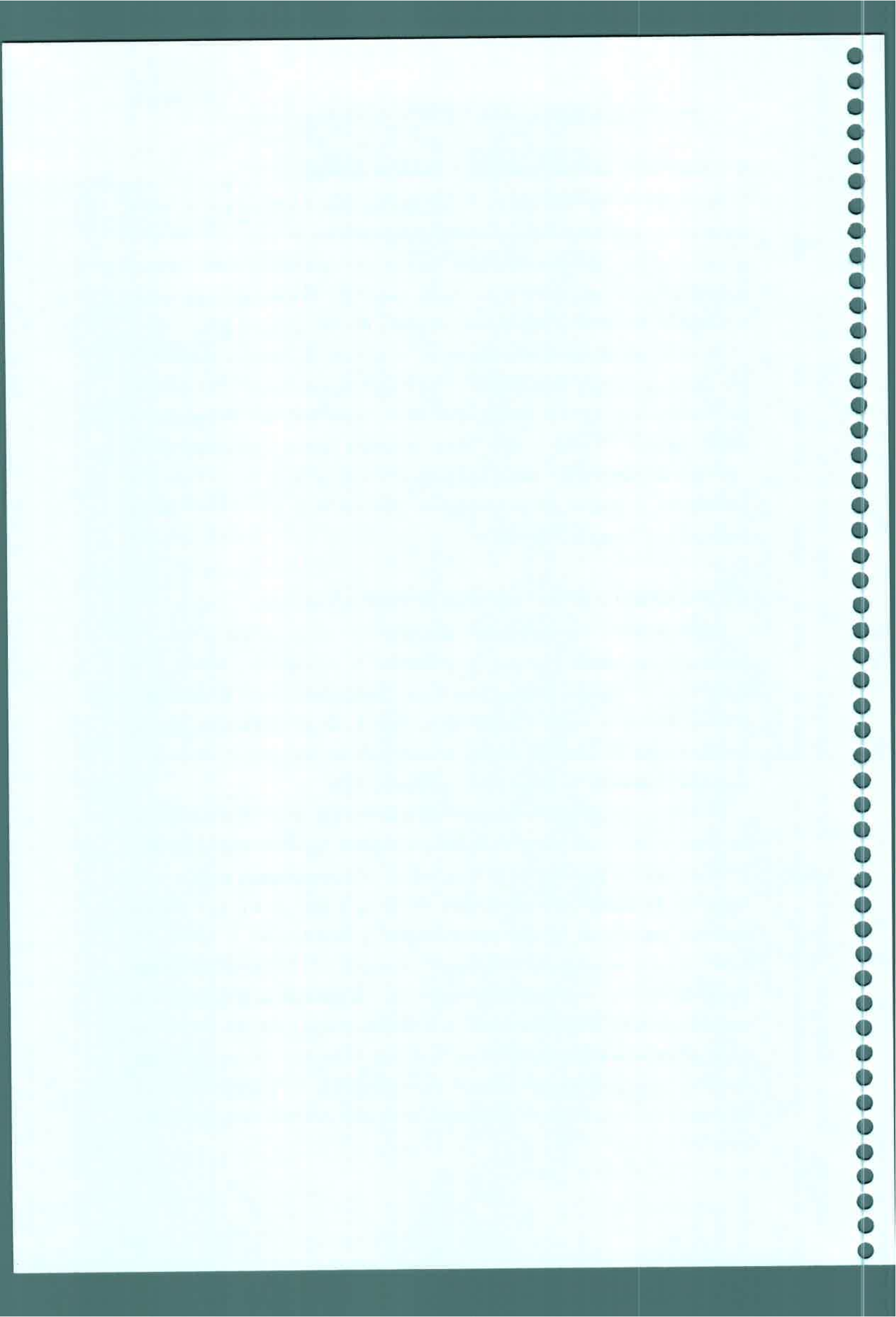
Harwood (1997) informó que los FLs representan más del 90% del total de lípidos contenidos en membranas extracloroplásticas; encontrándose en tubérculo de papa un elevado nivel de PC (61%) en peroxisoma, seguido por un predominio de PE (33%) en membrana interna mitocondrial y microsoma, luego CL (19%) en membrana interna mitocondrial, PG (15%) en peroxisoma, y PI junto a PS (16%) en microsomas.

En tubérculos de papa almacenados a 4°C y 12°C, los fosfolípidos constitutivos más abundantes fueron fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE), mientras que fosfatidilinositol (PI), ácido fosfático (PA) y fosfatidilglicerol (PG) mostraron niveles menores (Wismer y col., 1998). Se conoce que el almacenamiento de tubérculos de papa a 4°C conduce a una mayor susceptibilidad de la membrana a la peroxidación de lípidos, con la consiguiente disminución de glicolípidos y de PI (Zabrouskov y Knowles, 2002).

5.5. Fosfolípidos como mediadores de procesos celulares

Los fosfolípidos son compuestos estructurales de las membranas celulares y constituyen una fuente rica para la generación de reguladores celulares y la transducción de diferentes señales (Wang y col., 2002). El aislamiento de mutantes y la disponibilidad de plantas transgénicas con cambios en su composición lipídica, sumado al secuenciamiento del genoma de *Arabidopsis* han permitido el estudio de la estructura y función de los lípidos (Wallis y Browse, 2002).

PC y PE son los componentes estructurales principales de las membranas celulares. PC actúa además como fuente de diversos mensajeros lipídicos (Kent y Carman, 1999), y posee una función clave en la biosíntesis de glicerolípidos en hojas, y en la biosíntesis de triacilglicerol en semillas (Williams y col., 2000). Una función específica para PS no ha sido aún informada, y recientemente la enzima PS decarboxilasa ha sido clonada en *Arabidopsis* (Rontein y col., 2003). PG, presente en membrana tilacoidal, interviene en la fotosíntesis y su presencia es esencial para el desarrollo de las membranas tilacoidales en *A. thaliana* (Hagio y col., 2002). PA es un lípido minoritario, representa entre 1-2% de los fosfolípidos totales en células eucariotas, considerado segundo mensajero e involucrado en la biosíntesis de fosfo y glicolípidos (Munnik, 2001). PI se encuentra en un nivel inferior a otros fosfolípidos estructurales como PC y PE.

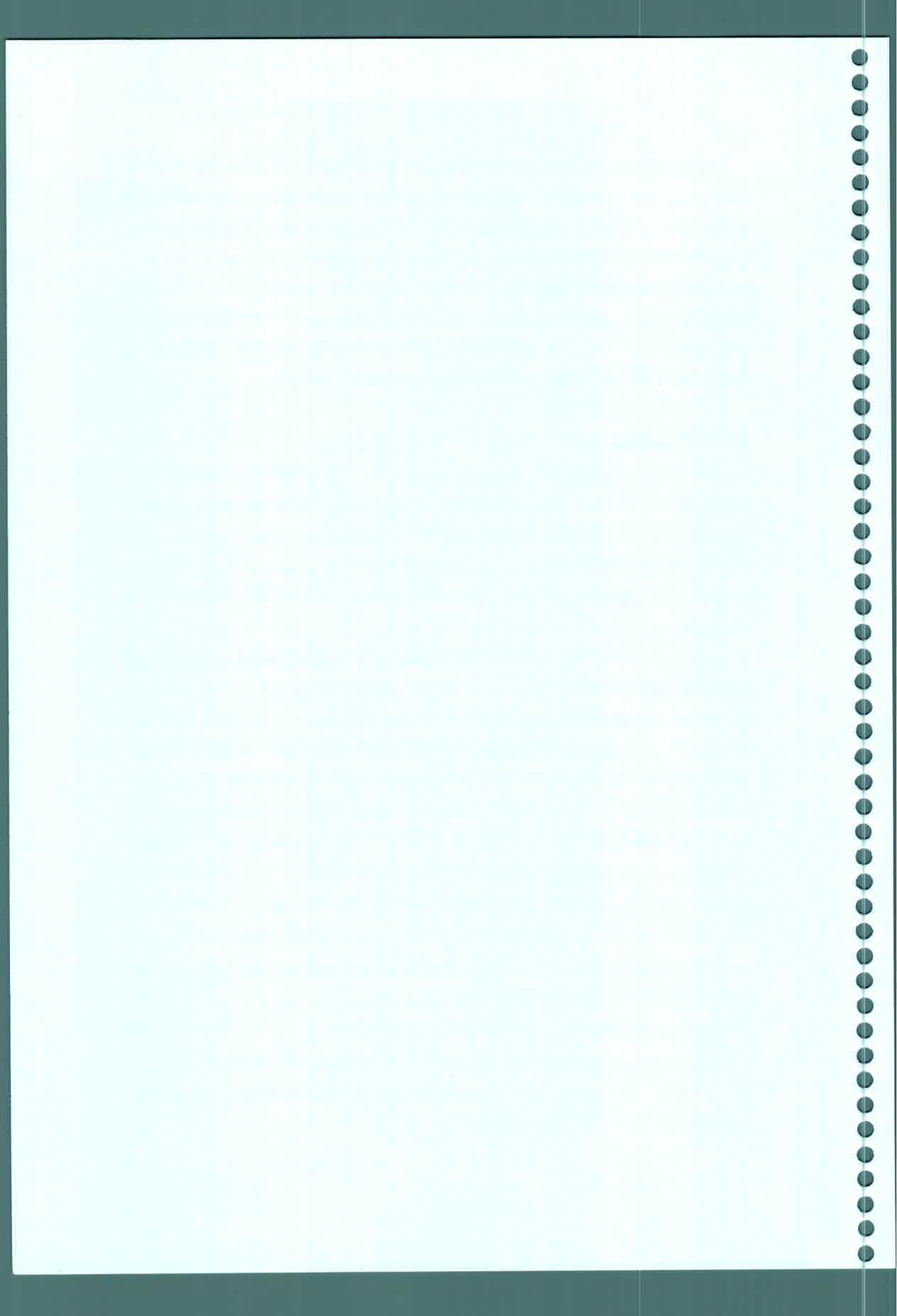


Los fosfolípidos del inositol polifosforilados, fosfatidilinositol monofosfato (PIP) y fosfatidilinositol bisfosfato (PIP₂) son mediadores importantes de la señal de transducción y efectores directos de proteínas de membrana y del citoesqueleto (Drøbak y col., 1999; Stevenson y col., 2000). En células vegetales sus niveles son menores que en células animales (Gawer y col., 1999), constituyendo la fracción menor del total de lípidos celulares. En plantas, la proporción de PI:PIP:PIP₂ oscila entre 300:17:1 a 10:1:1; el contenido de PIP₂ es cercano al 0.05% del total de fosfolípidos presentes en plantas (Hetherington y Drøbak, 1992).

5.6. Fosfolipasas

La función catabólica de los fosfolípidos es llevada a cabo por enzimas que hidrolizan los mismos, denominadas *fosfolipasas*. La acción de éstas impacta profundamente la estructura y estabilidad de las membranas; además cumplen una función clave en la regulación de numerosas funciones celulares, a través de la generación de segundos mensajeros que traducen las señales bióticas ó abióticas en una respuesta fisiológica (Wang, 1999).

De acuerdo al sitio donde hidrolizan al fosfolípido las fosfolipasas se agrupan en diferentes familias: PLD, PLC, PLA₁, PLA₂ y PLB. La PLD hidroliza la unión fosfodiéster de fosfolípidos estructurales generando PA y un grupo de cabeza polar, tal como colina en el caso de PC (Wang, 1999). Esta enzima clonada en plantas por Wang (2000), está involucrada en procesos hormonales de plantas superiores (Fan y col., 1997; Jacob y col., 1999) y frente a diversos tipos de estrés. En *Arabidopsis* se ha identificado una PLD dependiente de PIP₂ o PIP (PLD α) que hidróliza PC (Pappan y col., 1997). La PLD α es la PLD convencional, activa a concentraciones milimolares de Ca²⁺; mientras que PLD β y γ requieren PIP₂, un contenido elevado de PE, y son más activas a niveles micromolares de Ca²⁺ (Wang y col., 2002). PLD δ se activa por ácidos grasos insaturados y se asocia principalmente a la membrana plasmática (Wang y Wang, 2001) y se une a los microtúbulos (Gardiner y col., 2001). La asociación de PLD α con la membrana celular posibilita su participación en numerosos eventos de señalización celular. Elevada actividad de PLD y niveles de RNAm PLD α han sido detectados en hojas en expansión, hipocótilos, semillas en desarrollo y plántulas de ricino (Ryu y Wang, 1996; Xu y col, 1997).



Las fosfodiesterasas PLCs, remueven la base fosfato produciendo DAG, y se dividen en dos grupos según la especificidad de sustrato: PI-PLC, que hidroliza PIP_2 generando DAG y grupos de cabeza fosforilados, como el inositol 1,4,5-trisfosfato (IP_3), y PC-PLCs, que hidrolizan fosfatidilcolina (PC) y otros FLs (Fig. 14). PC-PLC ha sido encontrada en numerosas plantas (Wang, 2001); sin embargo aún es escasa la información molecular sobre esta enzima (Wang y col., 2002).

La fosfolipasas A_1 (PLA_1) y A_2 (PLA_2) son acilhidrolasas, que hidrolizan fosfolípidos en posición *sn-1* o *sn-2* del esqueleto glicerol respectivamente, produciendo lisofosfolípidos y ácidos grasos libres (Fig. 14). En plantas se ha purificado y clonado una PLA_2 del tipo s PLA_2 (secretora) (Stahl y col., 1999) y una del tipo i PLA_2 (intracelular) (Jung y Kim, 2000) clasificadas en animales.

Análisis de secuencia de PLA_1 de *Arabidopsis* han revelado tres proteínas localizadas en cloroplasto, citoplasma y mitocondria. La patatina, proteína de almacenamiento ubicada en vacuola y presente en tubérculo de papa, posee actividad tanto PLA_1 como PLA_2 , siendo la actividad de esta última mayor que la de PLA_1 (Senda y col., 1996; Wang y col., 2002).

Como se describió anteriormente, los fosfolípidos (FLs) además de ser reguladores de las fosfolipasas, son sustratos de estas enzimas (Fig. 14).

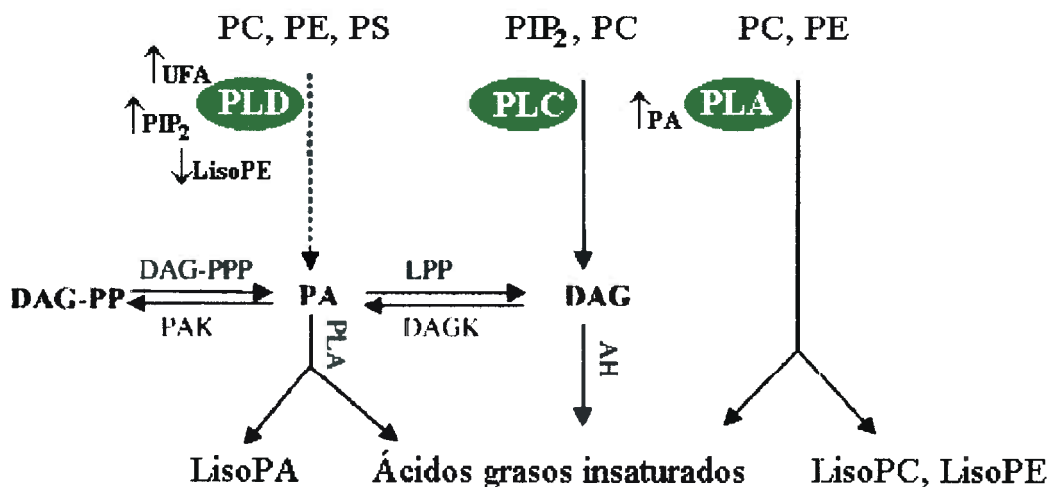


Fig. 14. Interconversión de productos de fosfolipasas y efectos de los mismos sobre la actividad de estas enzimas. Se observa cómo pueden ser metabolizados los productos de las diferentes fosfolipasas en la célula. \uparrow indica estimulación y \downarrow inhibición (Wang y col., 2002).



PLD es capaz de hidrolizar varios FLs, incluyendo: PC, PE, PG y PS para producir PA y grupos de cabeza libres, solubles en agua (Wang y col., 2002). PLD α hidroliza PC, PE y PG, pero no PI o PS (Dyer y col., 1994). Además, Chapman y col. (1998) encontraron que la PLD de semilla de algodón hidroliza un fosfolípido minoritario denominado N-acilfosfatidiletanolamina (NAPE).

Si bien la PLD α , β y γ hidrolizan PC, PE y PG, la actividad de PLD β y γ depende de PIP₂ y de un elevado contenido de PE. Estas enzimas hidrolizan PS y NAPE; el cual no es hidrolizado por PLD α . Por otra parte, PI, PIP₂ y cardiolipina no son hidrolizados por ninguna de estas tres isoformas (Pappan y col., 1998). Una leve preferencia de PLD por PC conteniendo ácidos grasos insaturados que saturados ha sido observada (Abousalham y col., 1997).

De las PLDs conocidas, sólo ha sido intensamente investigada la localización subcelular de la PLD α , encontrándose en vacuola (Herman y Chrispeels, 1980) y fuera de esta organela, asociada con el citoplasma, retículo endoplásmico y membrana plasmática (Xu y col., 1996). La PLD posee actividad de *transfosfatidilación*, propiedad que las diferencia de otras enzimas.

5.6.1. Participación de fosfolipasas y productos de ellas en diversas funciones celulares

Estímulos físicos y químicos tales como la luz, hormonas, estrés osmótico y elicitores fúngicos inducen el ciclo del fosfoinositol en plantas (Drøbak, 1992) en el cual participa la PLC. La activación de PLC produce la hidrólisis de PIP₂ en dos segundos mensajeros: inositol 1,4,5-trisfosfato (IP₃) el cual difunde hacia el citosol, y DAG, que permanece en la membrana. En animales, IP₃ libera Ca²⁺ almacenado intracelular, mientras que DAG puede activar a miembros de la proteína quinasa C (PKC). Sin embargo, las plantas carecen de esta enzima y el DAG es rápidamente convertido a PA (Munnik y col., 1998).

PLC interviene en procesos de regulación de la presión osmótica, tanto bajo estrés, como en procesos que ocurren normalmente por ej. el cierre estomático; además, PLC se activa en respuestas de defensa, por ej. frente al tratamiento con elicitores (Munnik y col., 1998).

Diversas líneas de investigación indican que PLAs median una multitud de procesos celulares, incluyendo la elongación celular (Scherer, 2002), gravitropismo



(Moore, 2002), dehiscencia de antera (Sanders y col., 2000; Stintzi y Browse, 2000; Ishiguro y col., 2001), biosíntesis de ácido jasmónico (JA) y señalamiento de defensa (Ryu, 2004), tales como heridas, patógenos y ataque de insectos, a través de la provisión del ácido linolénico como sustrato para la biosíntesis de JA y sus derivados. Hasta el momento no existe evidencia de participación de PLA₂ en la biosíntesis de JA. Sin embargo, como se describió previamente, una PLA₁ ha sido involucrada recientemente en el paso inicial de síntesis de JA (Ishiguro y col., 2001). Sin embargo, cuando plantas silvestres y mutantes PLA₁ fueron sometidas a daño mecánico, las cantidades de JA producido fueron iguales, indicando que otras enzimas lipolíticas son responsables de la respuesta de defensa inducida por JA (Laxalt y Munnik, 2002). En hojas de tomate, PLA₂ se activa bajo daño mecánico, sistemina y elicitores oligosacáridos (Lee y col., 1997; Narváez-Vasquez y col., 1999).

Narusaka y col. (2003) informaron que la patatina de *Arabidopsis* (*At* PAT-PLA-II α) se induce por varios tipos de estrés tanto bióticos como abióticos, incluyendo la inoculación con patógenos, frío, salinidad elevada, ácido abscísico, ácido salicílico, Me-JA, etefón y luz ultravioleta.

Además, la actividad de PLA es importante durante el desarrollo del embrión, debido a que permite direccionar ácidos grasos poco comunes hacia la síntesis de triacilglicerol de semillas de oleaginosas, y previenen del daño fisiológico ocasionado por la acumulación de ácidos grasos en la membrana (Chapman, 1998).

Además, los lisofosfolípidos producidos por actividad de PLAs, por ej. LPC y LPE son biológicamente activos en diversos procesos de señal. LPC promueve actividad de proteínas quinasas y bombas H⁺-ATPasa, con una consecuencia dramática sobre el pH intracelular (Munnik y col., 1998).

La PLD en plantas, inicialmente referida como una enzima catabólica cuya función principal es la degradación de fosfolípidos de membrana (Wang, 1993), ha sido involucrada en la transducción de señales en plantas. PLD es activada en respuesta al tratamiento con ácido abscísico, estrés osmótico, daño mecánico y respuestas de defensa (Munnik, 2001; Wang, 2001) ú otras señales que ocurren durante el crecimiento, desarrollo y senescencia.

La hidrólisis de fosfolípidos mediada por PLD inicia una cascada lipolítica PLD, PA fosfatasa y acilhidrolasa, conduciendo al deterioro de la membrana durante la senescencia y con el incremento en la edad (Paliyath y col., 1987). Los ácidos grasos



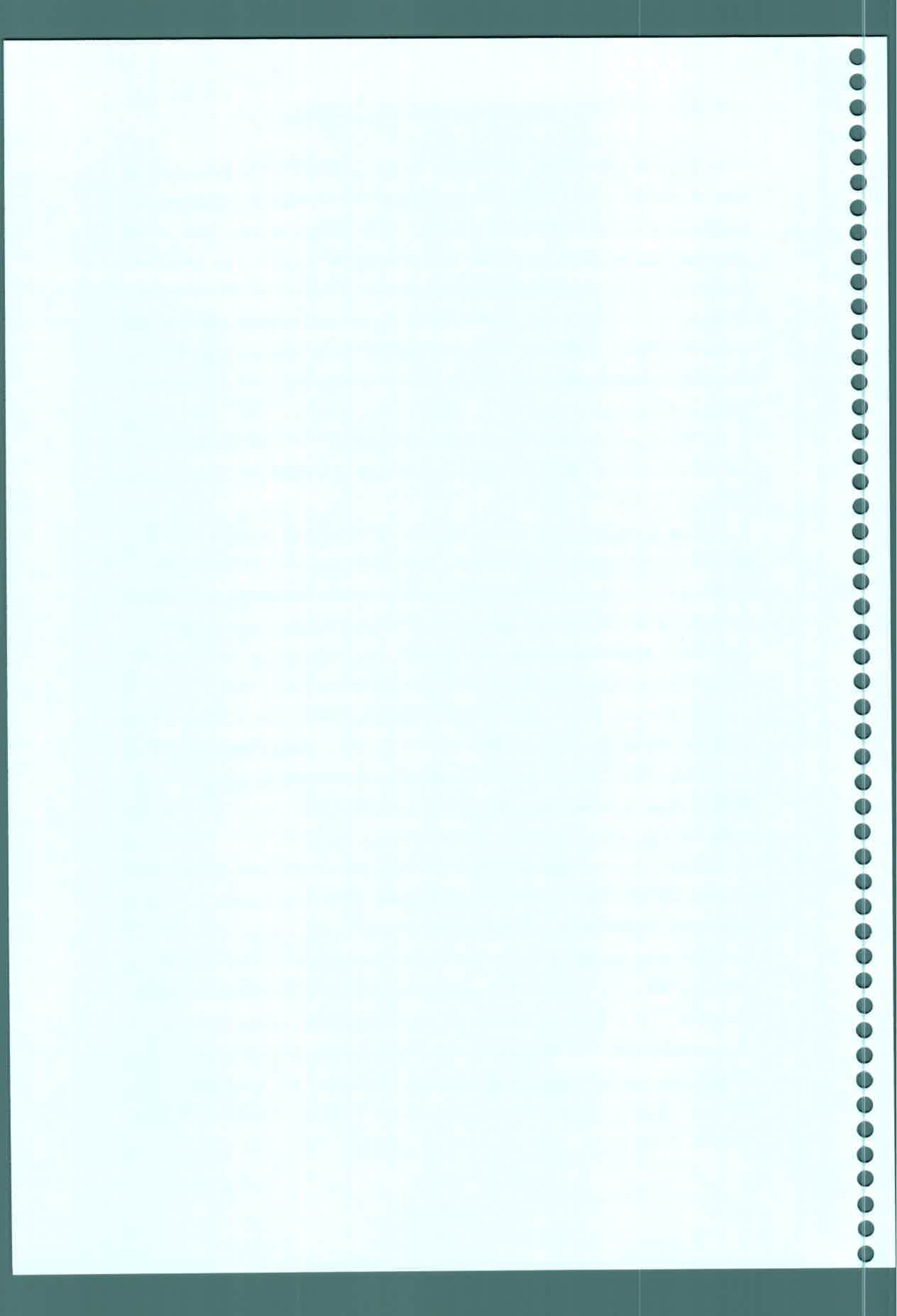
libres generados por esta vía son sustrato de lipoxigenasas para la producción de radicales hidroperóxidos, capaces de desorganizar la integridad de membrana, del DNA y de proteínas (Beutelmann y Kende, 1977). Durante la senescencia se ha observado una progresiva declinación del contenido de fosfolípidos de membrana (Brown y col., 1991). Existe gran interés en delinear los mecanismos que conducen a la senescencia debido a que anualmente se pierden una cantidad sustancial de productos agrícolas. Ryu y col. (1997) han sugerido que la senescencia postcosecha puede ser disminuída por LisoPE debido a que este fosfolípido produce una inhibición directa de PLD .

La PLD interviene durante la germinación de semillas; en endosperma de ricino se han encontrado niveles de PLD α incrementados luego de la imbibición (Wang y col., 1993).

Durante el crecimiento y madurez de frutos tiene lugar el catabolismo lipídico mediado por PLD. Pinhero y col. (2003) observó en *Lycopersicon esculentum* Mill. un incremento en actividad de PLDs solubles y unidas a membrana durante el desarrollo del fruto. Una disminución del contenido de fosfolípidos durante la madurez de frutos es indicativa del incremento en actividad de PLD, y se correlaciona con el aumento del deterioro de membrana que ocurre durante la senescencia (Witaker, 1994).

PLD interviene además en respuestas mediada por ABA. Ryu y Wang (1995) observaron que el tratamiento con ABA a discos de hojas de ricino incrementa el nivel de actividad PLD. Además, en hojas cosechadas de *Arabidopsis*, la supresión de PLD α retarda la senescencia inducida por ABA, indicando que la PLD α es un importante mediador de la acción de ABA (Fan y col., 1997).

Asimismo, la participación de PLD en la señal de ABA ha sido demostrada durante la dormancia y germinación de la semilla (Bewley, 1997). La aplicación de ABA a protoplastos de aleurona de cebada incrementa luego de 10 min la actividad de PLD, inhibiendo la acción promotora de la germinación mediada por GA (Ritchie y Gilroy, 1998). La aplicación directa de PA a protoplastos de aleurona frena la producción de α -amilasa e incrementa la síntesis de un inhibidor de amilasa imitando el mantenimiento del estado de dormición de la semilla mediado por ABA. Por lo tanto, ABA es una señal corriente arriba de la vía que activa PLD, y conduce a una regulación negativa de las proteínas involucradas en la movilización de energía (Pappan y Wang, 1999).



Además, PLD α interviene en la respuesta de las plantas a ABA y déficit hídrico. Sang y col. (2001) observaron que la supresión de PLD α impide el cierre estomático inducido por ABA o por déficit hídrico e incrementa la pérdida de agua en *Arabidopsis*; mientras que la sobreexpresión de esta enzima aumenta la sensibilidad de plantas de tabaco a ABA, reduciendo la pérdida de agua por transpiración (Austin-Brown y Chapman, 2002).

Por otra parte, PLD también contribuye a la vía de señal del etileno. Fan y col. (1997) encontraron incrementada la expresión del gen PLD α , el nivel de proteína y de su actividad. La expresión antisense de PLD α disminuye la senescencia promovida por el etileno en hojas de *Arabidopsis*.

En diferentes condiciones estresantes, tales como privación de nutrientes, congelamiento, irradiación, ataque de patógenos y daño mecánico, se observó un incremento en la actividad de PLD (Voisine y col., 1993; Ryu y Wang, 1996; Lee y col., 1997; Lee y col., 1998). Por otra parte, el daño mecánico ha sido empleado como un mecanismo activador para estudiar la PLD *in vivo* (Bergey y col., 1996). La activación de PLD por herida ocurre no solo en células dañadas, sino también en tejidos no dañados conduciendo a un incremento de PA. Este incremento se debe a la acción de PLD más que de PLC y DAGK debido a que se libera colina y no fosfocolina (Ryu y Wang, 1996). Otro estudio reveló que el incremento de PA en respuesta a daño mecánico aparece antes que la producción de lisofosfolípidos (Lee y col., 1997). Por lo tanto, la activación de PLD precede el incremento de otras enzimas lipolíticas, tales como, PA fosfatasa, acil hidrolasas y PLC. De esta manera, PA podría servir como segundo mensajero en respuestas de estrés regulando la actividad de acil hidrolasas, PLC u otras enzimas (Pappan y Wang, 1999).

5.6.2. Eventos de transducción de señal durante el daño mecánico

Wang y col. (2000) sugirieron que el incremento de PA promueve la liberación de ácidos grasos poliinsaturados, por el hecho de suministrar PA como sustrato lipolítico o por activar enzimas acil hidrolasas tales como PLA. PA activa numerosas enzimas: PLD, PLA₁, PLA₂, PLC, PA fosfatasa, DAG quinasa, proteínas G y proteínas quinasa.

Se conoce que las heridas incrementan JA en muchas especies vegetales y que PLA₂ participa en las respuestas de defensa. Conconi y col. (1996) informaron aumentos transitorios de LA y ácido linoleico en hojas de tomate heridas, y Narváez-



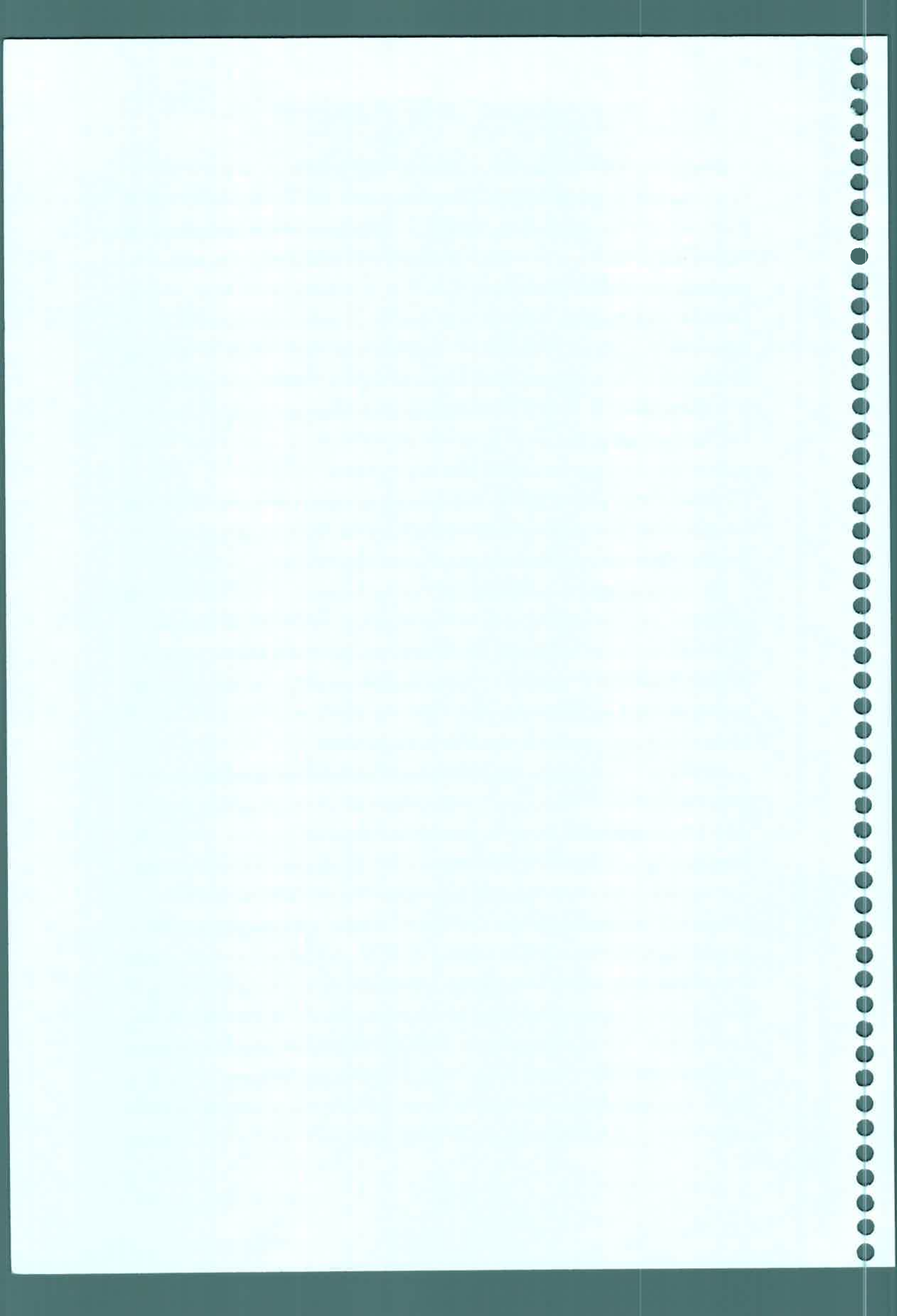
Vásquez y col. (1999) encontraron un aumento rápido y sistémico en la actividad de PLA₂. Además, heridas ocasionadas a hojas de tomate causaron incremento de PA (Lee y col., 1997) y recientemente Wang y col. (2000) revelaron la participación de PLD en la acumulación de JA inducida por heridas en *Arabidopsis*. Por lo tanto, debe destacarse que la participación de PLA₂ y PLD en la acumulación de JA ha sido observada exclusivamente luego de la producción de heridas; sin embargo, se ha demostrado la participación de una PLA₁ en la biosíntesis de JA en procesos del desarrollo de la planta, tal como la dehiscencia de la antera (Ishiguro y col., 2001).

La participación de PLA₂ en la biosíntesis de JA fue precedida por Mueller (1997); sin embargo, inhibidores de PLA₂ animal no inhibieron la acumulación de JA producida por heridas a tubérculos de papa (Koda y Kikuta, 1992).

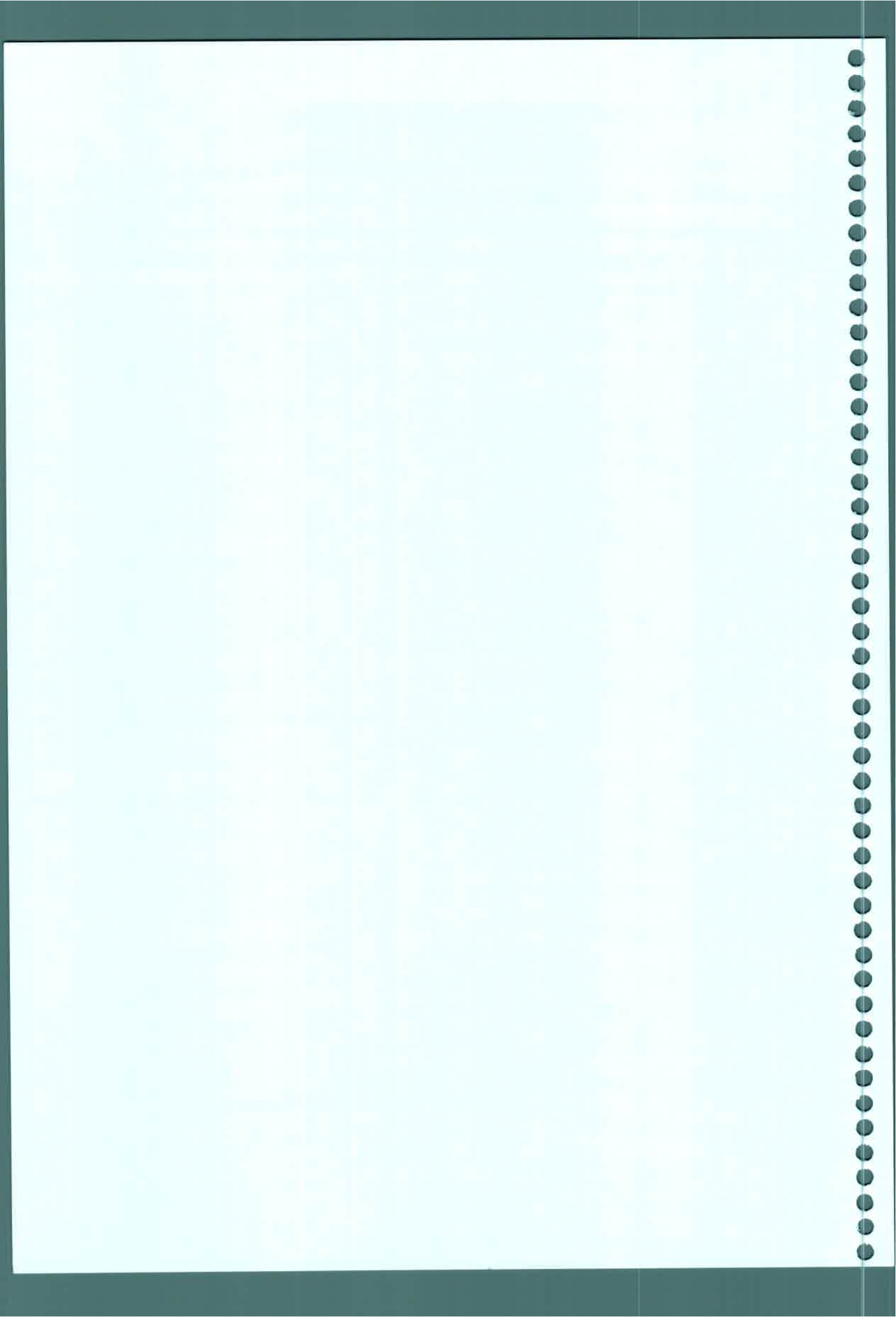
Estos hallazgos parecen indicar que la reacción lipolítica mediada por una PLA es uno de los principales pasos reguladores de la biosíntesis de JA, mientras que la PLD requiere otras enzimas lipolíticas para liberar ácidos grasos (Ishiguro y col. 2001).

En células animales la contribución de PLA₂ en la síntesis de prostaglandinas es consistente con la especificidad posicional del ácido araquidónico, el cual se encuentra en posición sn-2 de los fosfolípidos. Sin embargo, en hojas de *Arabidopsis*, la cantidad de LA en posición sn-1 es similar a la que se encuentra en sn-2, y más del 30% de los ácidos grasos sn-1 es LA (Browse y col., 1986). Por lo tanto es factible que la enzima que cataliza el primer paso de la biosíntesis de JA sea una PLA₁.

Un estudio con un mutante de *Arabidopsis* dad1 (deficiente en la dehiscencia de la antera) que presenta alteraciones en la dehiscencia de las anteras, en la maduración del polen y en la apertura de las flores, permitió identificar una PLA₁ que cataliza los pasos iniciales de la síntesis de JA (Ishiguro y col., 2001). Estos autores observaron una reversión de las características de este mutante tras el tratamiento con JA o LA exógenos. La identificación del gen DAD1 permitió aislar la proteína correspondiente de localización cloroplástica, con actividad de PLA₁. Esta proteína tiene la misma ubicación que LOX, AOS y AOC, enzimas involucradas en los pasos posteriores de la liberación de LA conducentes a la producción de JA. Más aún, la membrana externa del cloroplasto es la principal fuente de fosfatidilcolina, el cual es un buen sustrato para la proteína DAD1 (Joyard y col., 1991). En base a esto Ishiguro y col. (2001) hipotetizaron que la proteína DAD1 hidroliza los fosfolípidos de la membrana externa para abastecer LA. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que la AOS de



tomate está asociada periféricamente a la membrana interna de los cloroplastos y que enfrenta al estroma (Froehlich y col., 2001). Si la proteína DAD1 se asocia a la membrana interna podría utilizar galactolípidos, ya que estos representan más del 70% de los lípidos de esta membrana, mientras que los fosfolípidos sólo representan aproximadamente el 20%.



HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

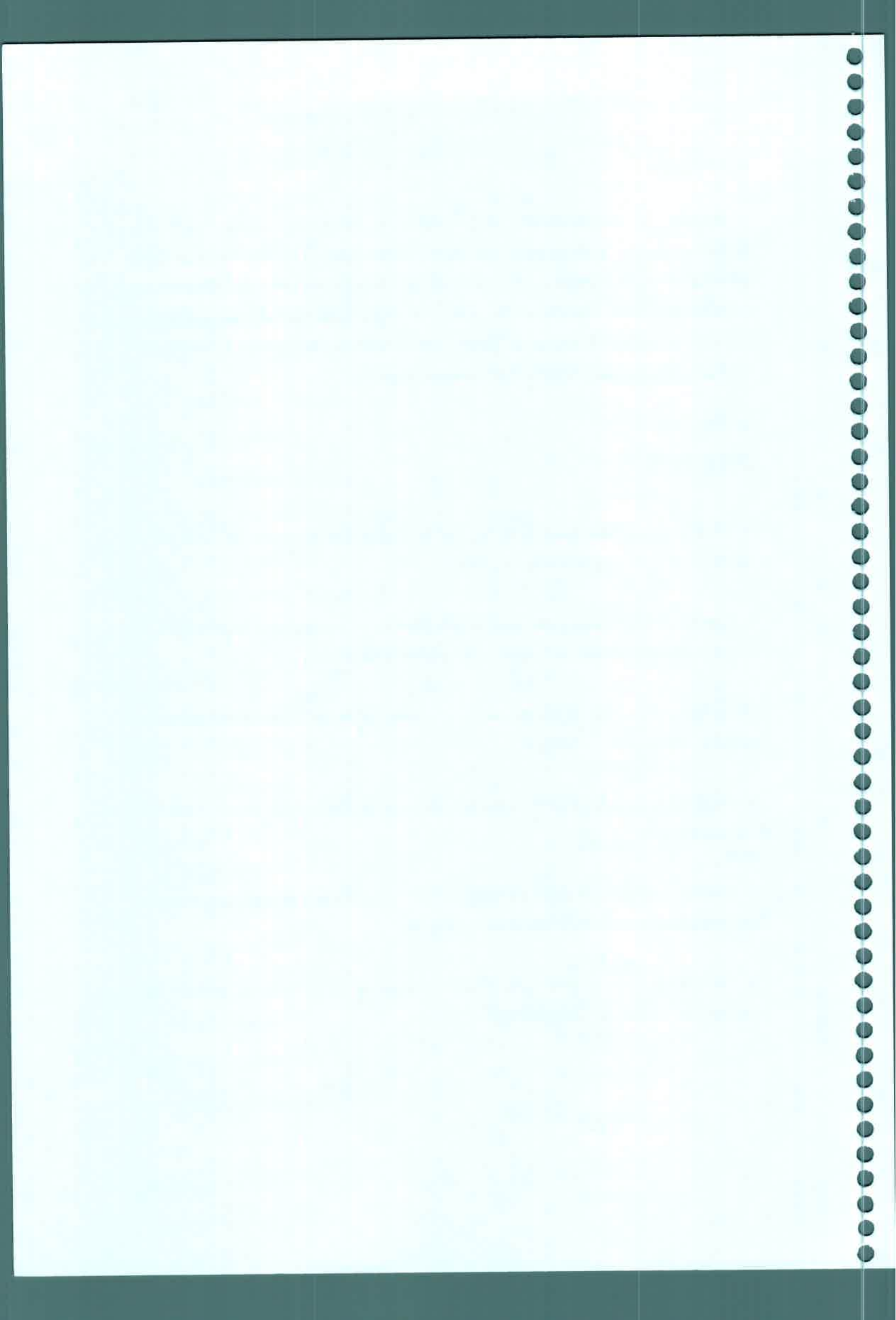
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

Durante la transformación del estolón a tubérculo ocurren profundas modificaciones en la morfología, fisiología y metabolismo, que abarcarían cambios hormonales, especialmente de jasmonatos, modificaciones en fosfolípidos estructurales y/o involucrados en los eventos de señalización mediados por jasmónico. Estos procesos, ordenados en el tiempo y en el espacio, determinarían crecimiento celular y diferenciación de tejidos del meristema apical.

OBJETIVOS

- Identificar los miembros de la familia de jasmonatos presentes en estolones y tubérculos de *Solanum tuberosum* L.
- Cuantificar los niveles endógenos de los jasmonatos previamente identificados en ápices y estolones durante la transición del estolón a tubérculo.
- Evaluar el contenido de fósforo total y el patrón fosfolipídico durante las etapas de transición del estolón a tubérculo.
- Analizar los cambios fosfolipídicos por efecto de la estimulación de estolones con ácido jasmónico.
- Estudiar la acción del ácido jasmónico sobre la expansión y diferenciación celular en estolones de los primeros estadios ontogénicos.
- Establecer correlaciones entre niveles endógenos de jasmonatos, cambios en fosfolípidos y formación del tubérculo.



RESULTADOS

RESULTADOS

RESULTADOS

1. Contenido endógeno de jasmonatos

El ácido jasmónico (JA) así como su precursor y algunos de sus derivados fueron identificados en diferentes estadios ontogénicos de la transición de estolón a tubérculo (Fig. 48 y 49), específicamente en los meristemas apicales del estolón (ápices) y también en el estolón propiamente dicho que incluye el meristema subapical. En ápices y estolones se mostró la presencia de JA así como también la de su éster metílico (Me-JA), y derivados hidroxilados 11-OH-JA y 12-OH-JA. Además se detectó el precursor de JA, el ácido 12-*oxo*-fitodienoico (OPDA), y el conjugado de JA con isoleucina (JA-Ile). Sin embargo, el primero de estos compuestos no pudo ser cuantificado por inconvenientes propios del material vegetal en estudio, y el segundo a causa de su baja concentración en estos tejidos.

Durante la transformación de los estolones en tubérculos se observaron cambios en los niveles endógenos de JA y de sus formas hidroxiladas (Fig. 15).

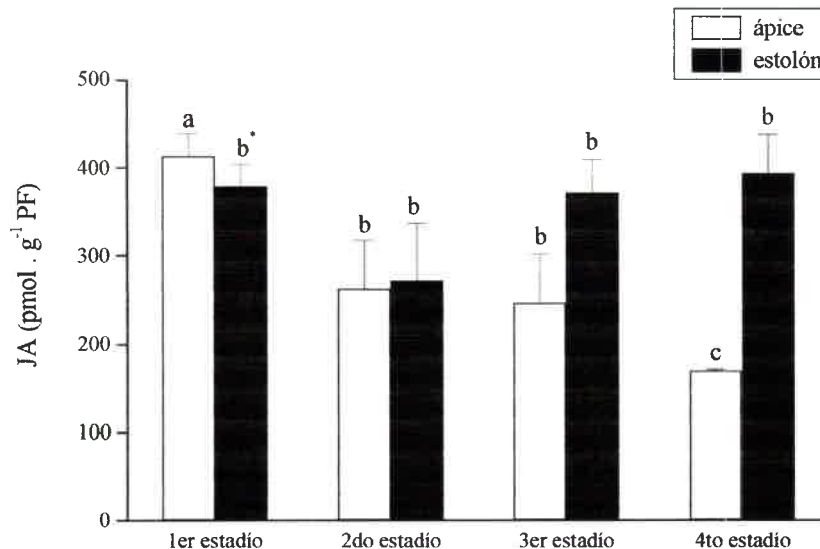
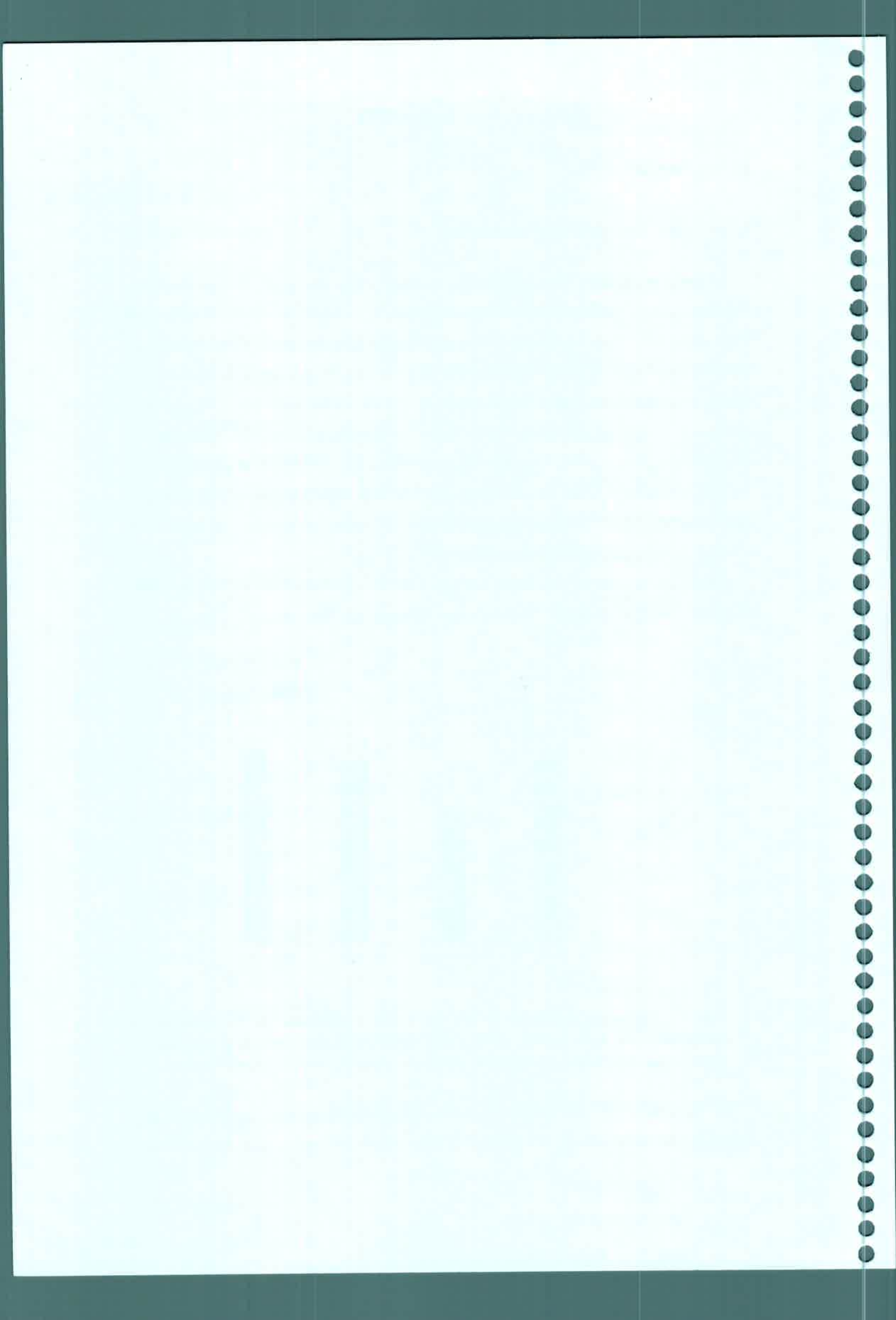


Fig. 15. Contenido endógeno de JA en ápices y estolones de los estadios ontogénicos de tuberización. $n=3$, \pm SE. Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0.05$. El * no denota diferencias significativas con respecto al ápice.

En los ápices se evidenció una disminución estadísticamente significativa del contenido de JA desde el 1er estadio al 4to estadio, mientras que los estolones



mantuvieron un nivel elevado y constante de este compuesto en los cuatro estadios analizados. Además, en el 4to estadio el contenido de JA en estolón fue significativamente mayor que el encontrado en ápice (Fig. 15).

Una disminución significativa se observó en el contenido de 12-OH-JA de ápices correspondientes al 3er y 4to estadio respecto al 1er estadio, mientras que en estolones no se produjeron cambios significativos a lo largo de la ontogenia. Asimismo, disminuciones significativas de 12-OH-JA se evidenciaron en estolones correspondientes al 1er y 2do estadio con respecto a ápices (Fig. 16).

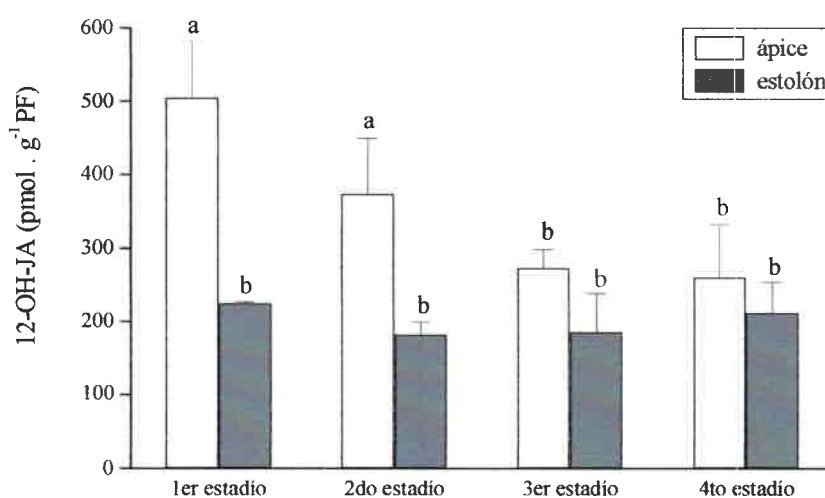
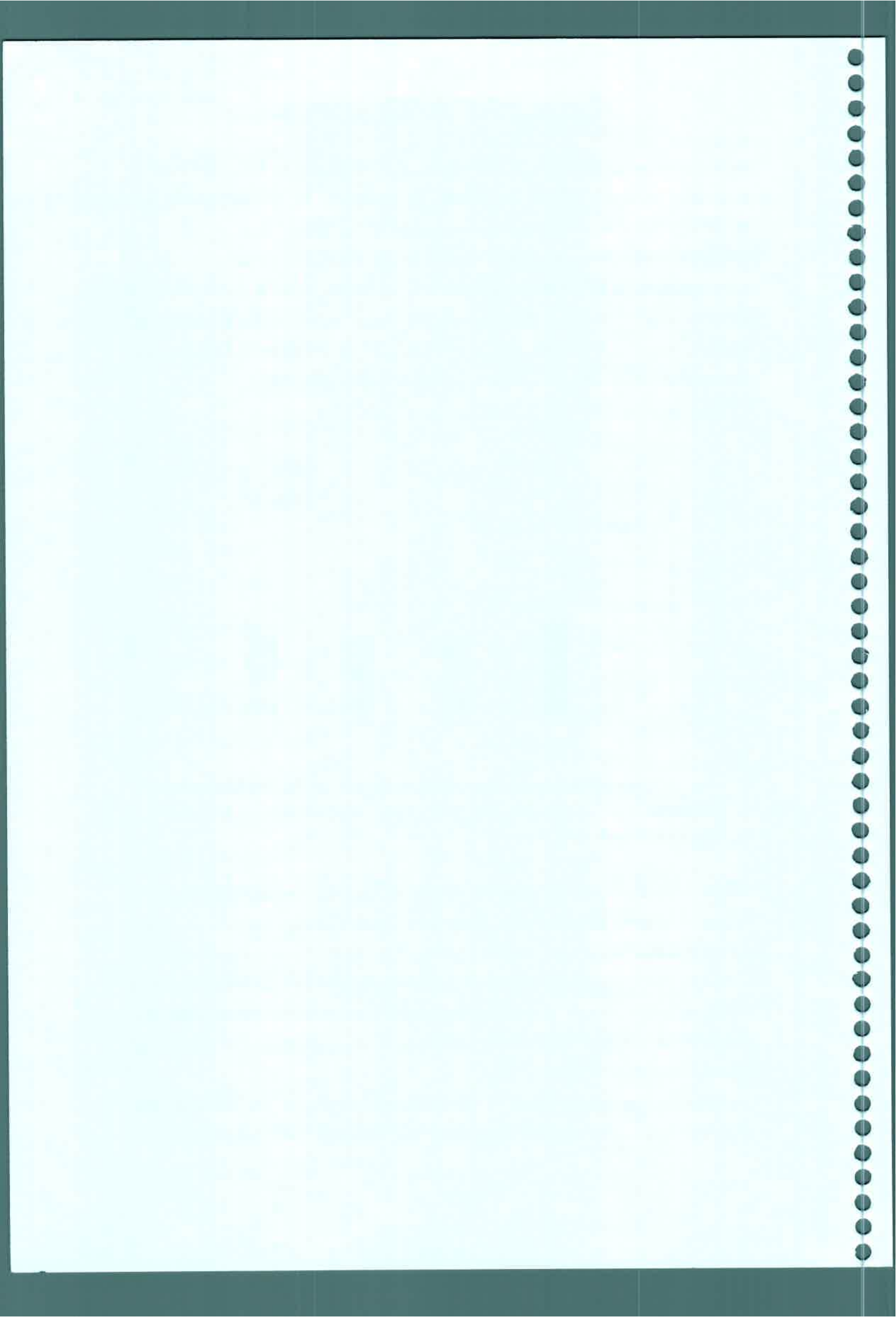


Fig. 16. **Contenido endógeno de 12-OH-JA en ápices y estolones de los estadios ontogénicos de tuberización.** n=3, \pm SE. Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0.05$.

Por otra parte, 11-OH-JA mostró en ápices una dinámica diferente a 12-OH-JA a lo largo del proceso de tuberización. El aumento significativo de 11-OH-JA en ápices del 4to estadio respecto a los restantes estadios (Fig. 17), fue paralelo a la disminución de 12-OH-JA con la ontogenia (Fig. 16). Además, en estolones el contenido de 11-OH-JA se incrementó en el 4to estadio respecto a los restantes; por lo tanto este compuesto se comportó de la misma manera en ápices y estolones a lo largo de la ontogenia.

Asimismo, se observó que el contenido de 11-OH-JA en estolones fue significativamente más bajo que en ápices en todos los estadios analizados (Fig. 17).



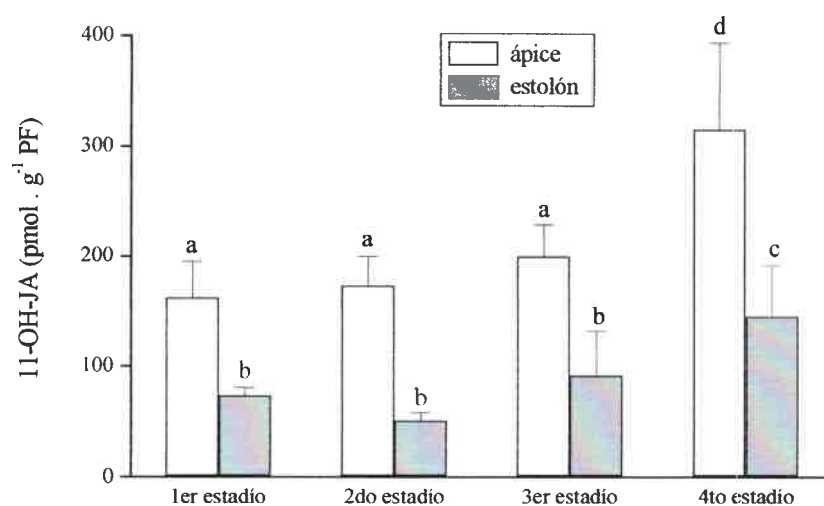


Fig. 17. Contenido endógeno de 11-OH-JA en ápices y estolones de los estadios ontogénicos de tuberización. $n=3$, \pm SE. Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0.05$.

La cuantificación de los niveles endógenos de Me-JA reveló un bajo contenido de este compuesto en los estadios analizados; no registrándose diferencias significativas entre ápices y estolones durante la ontogenia (Fig. 18).

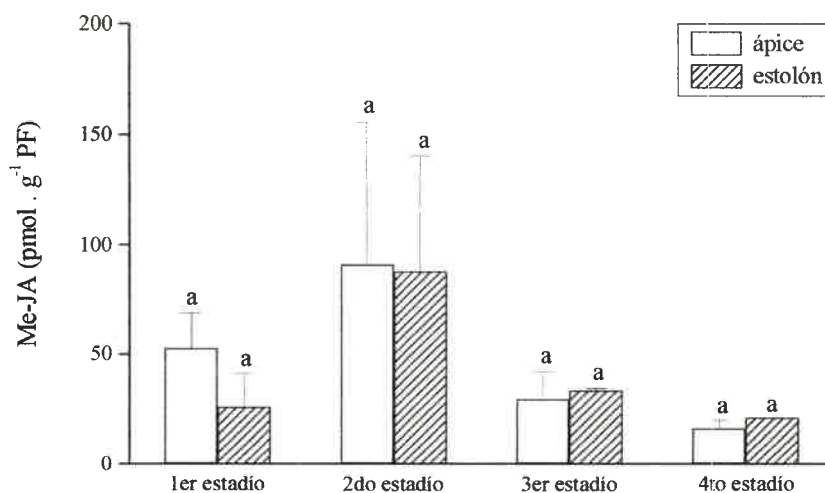
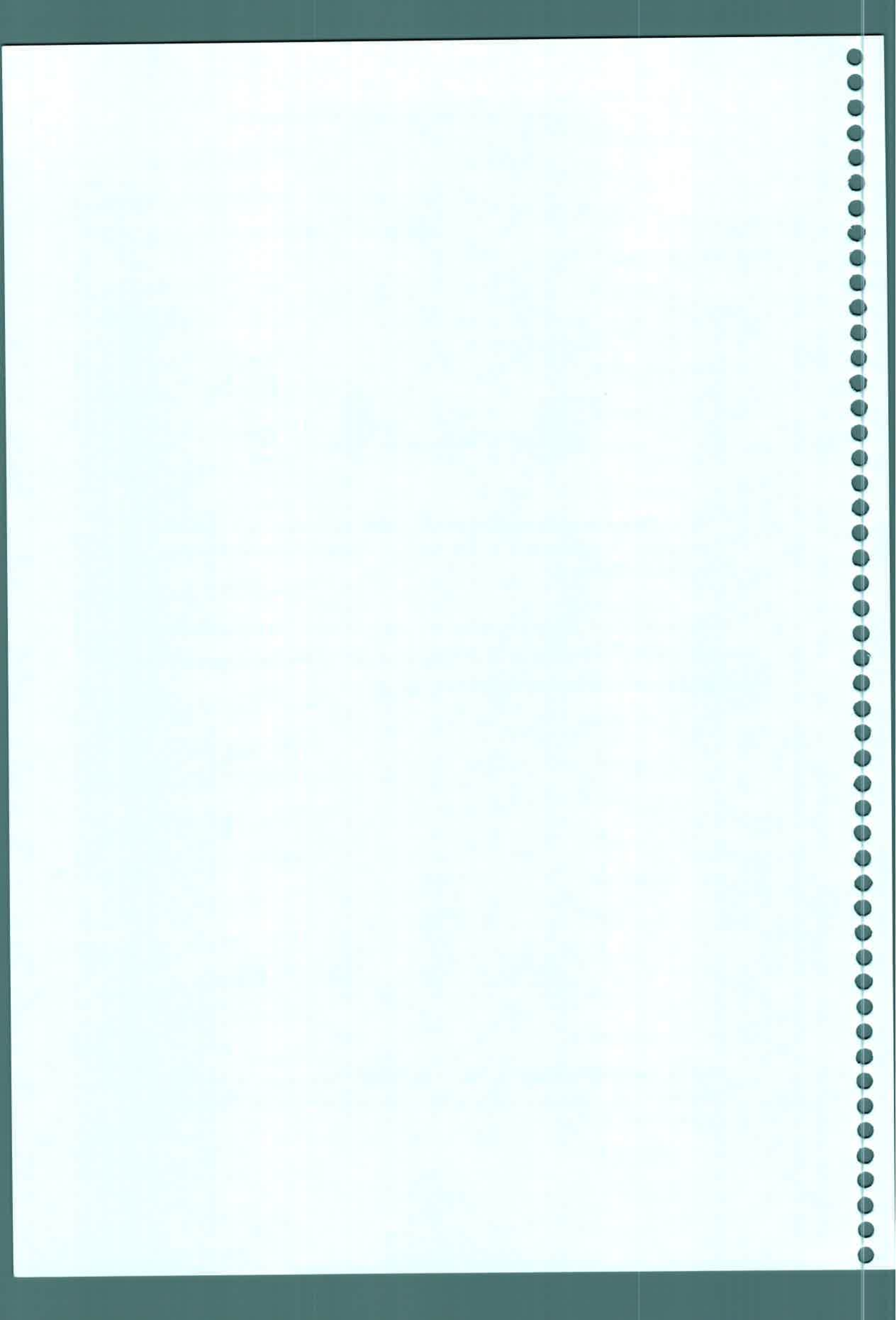


Fig. 18. Contenido endógeno de Me-JA en ápices y estolones de los estadios ontogénicos de tuberización. $n=3$, \pm SE. Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0.05$.



Al comparar el contenido de jasmonatos (JAs) presentes en ápices se observó como formas mayoritarias 12-OH-JA y JA, y como formas minoritarias 11-OH-JA y Me-JA en los tres primeros estadios ya que en el 4to estadio 11-OH-JA predominó sobre JA (Fig. 19); mientras que en estolones JA fue el más abundante, siguiéndole en orden 12-OH-JA en todos los estadios ontogénicos, manteniéndose como minoritarios 11-OH-JA y Me-JA (Fig. 20).

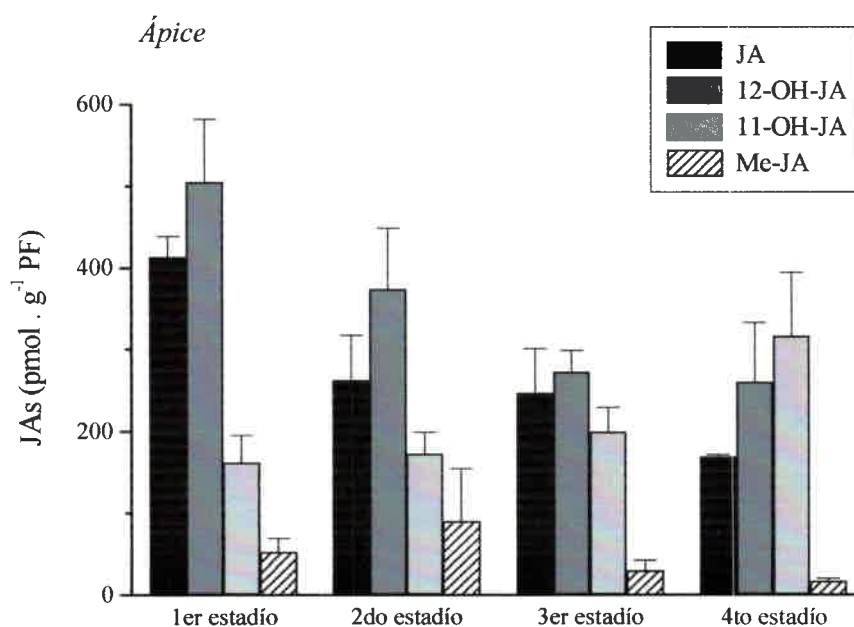
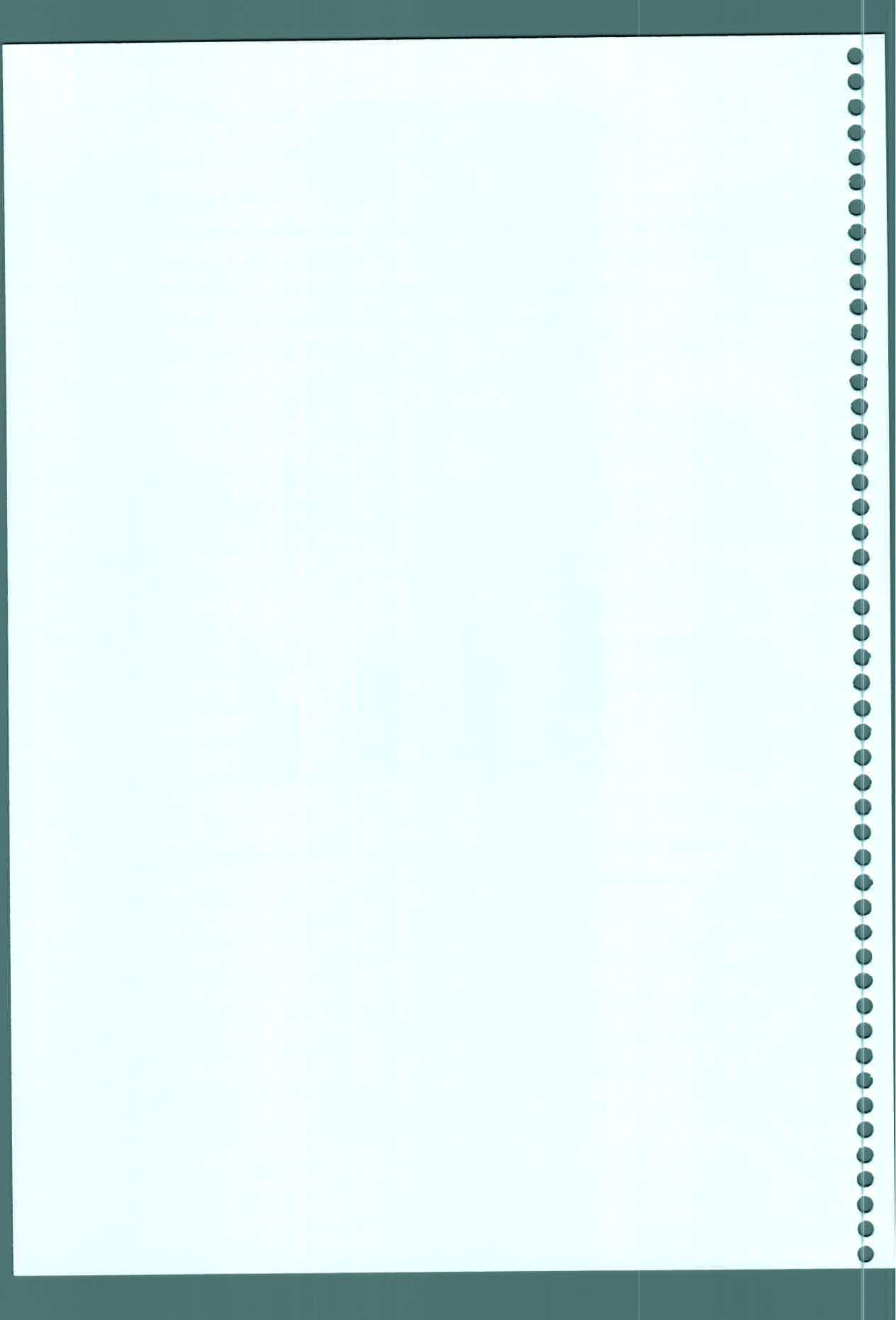


Fig. 19. Contenido de JAs en ápices de los estadios ontogénicos de tuberización ($n=3$, \pm SE).



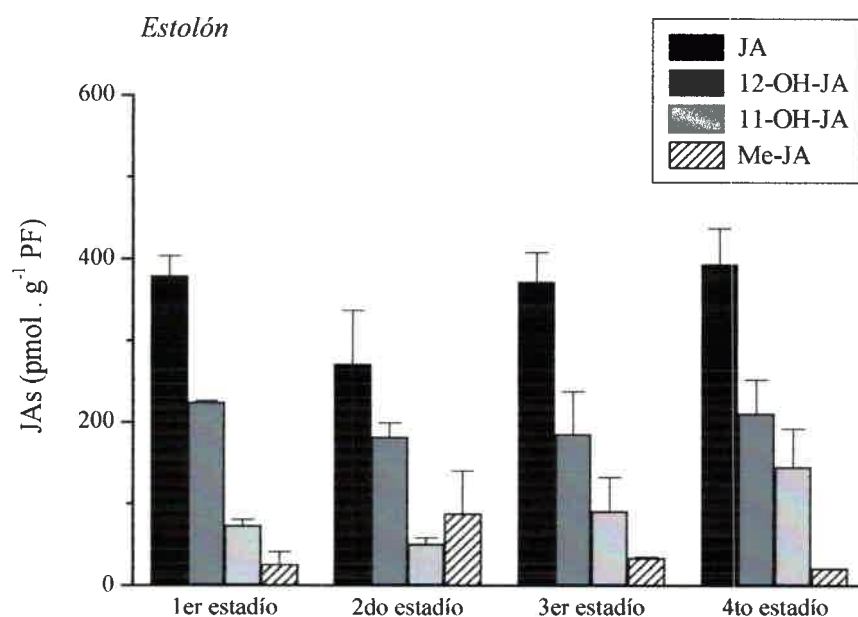
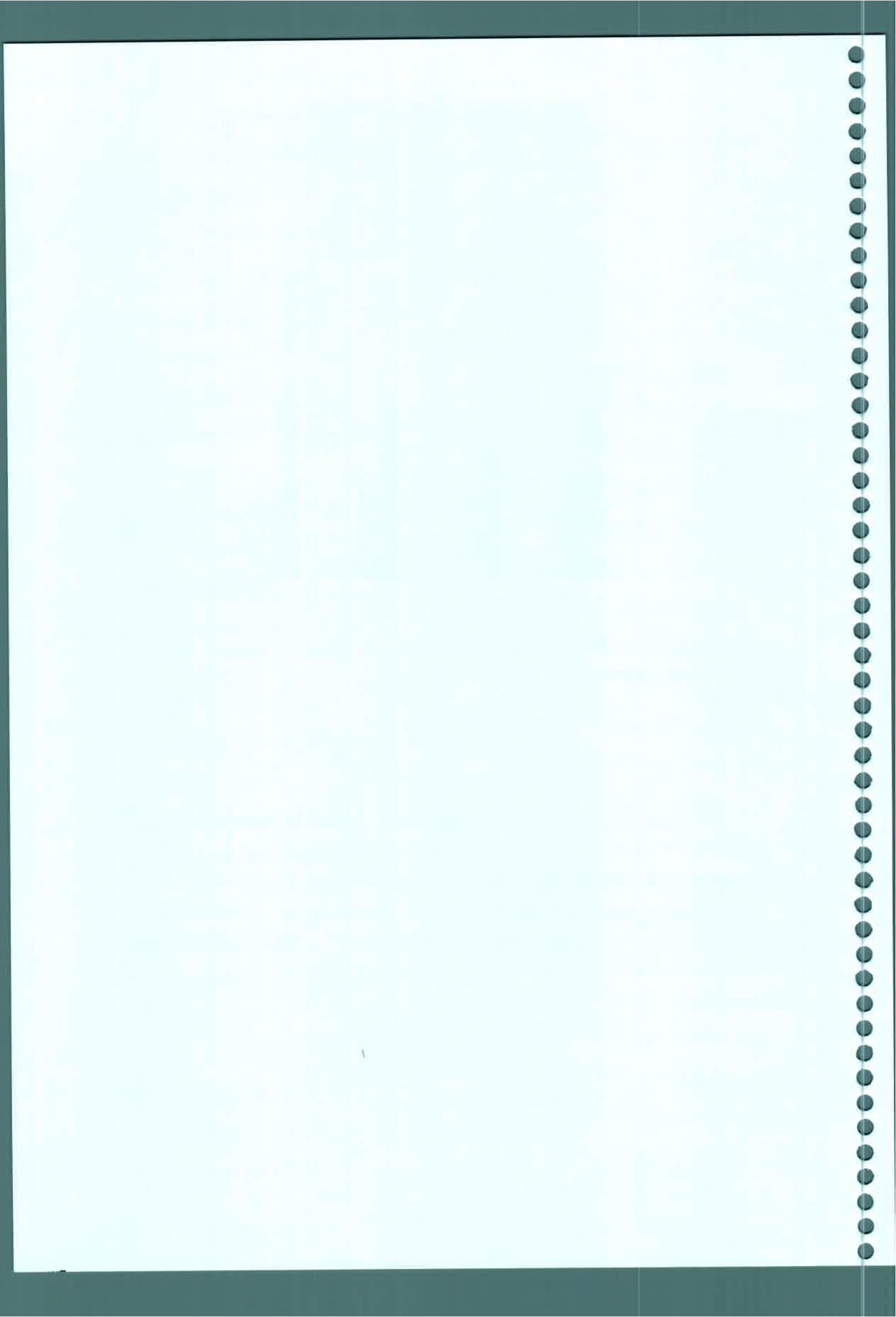


Fig. 20. Contenido de JAs en estolones de los estadios ontogénicos de tuberización (n=3, \pm SE).

A continuación se muestran los cromatogramas y espectro de masas obtenidos por cromatografía gaseosa y espectrometría de masa (GC-MS) para JA estándar (Fig. 21) y para JA endógeno (Fig. 22). En color se indican los iones que identifican a JA, los cuales permiten corroborar la presencia de este compuesto en la muestra analizada. Los valores de 230,1 y 224 representan la masa total de JA estándar y de JA presente en la muestra respectivamente.



RT: 8,18 - 11,36 SM: 7G

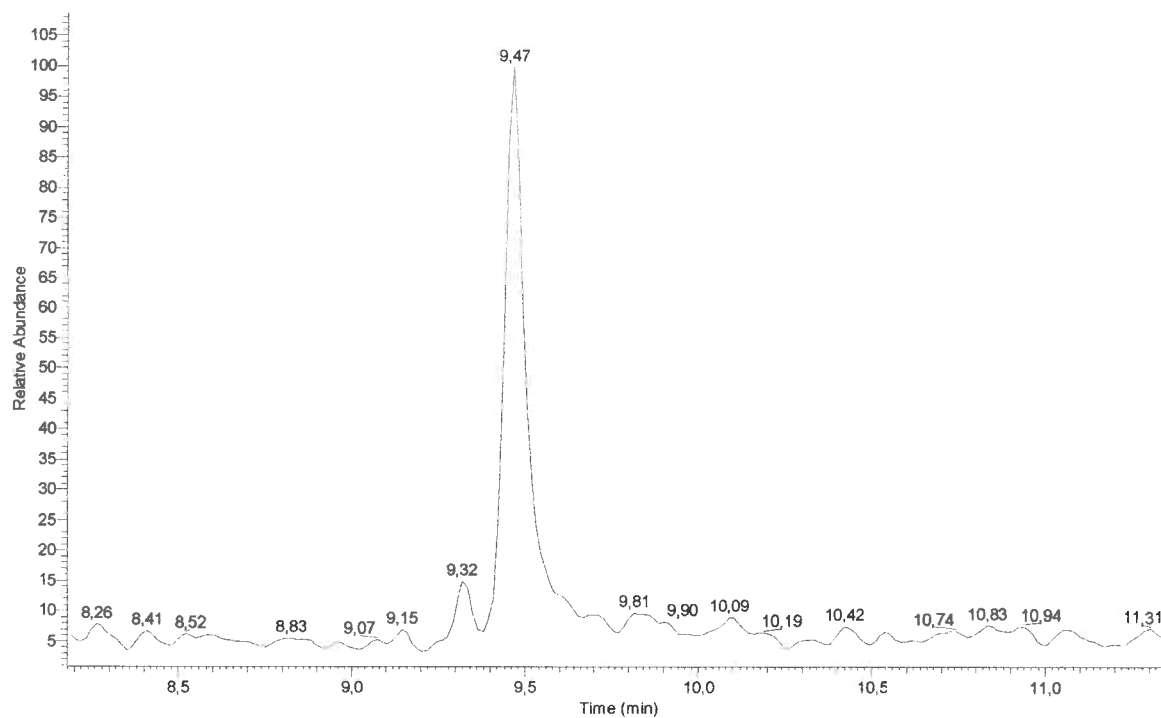
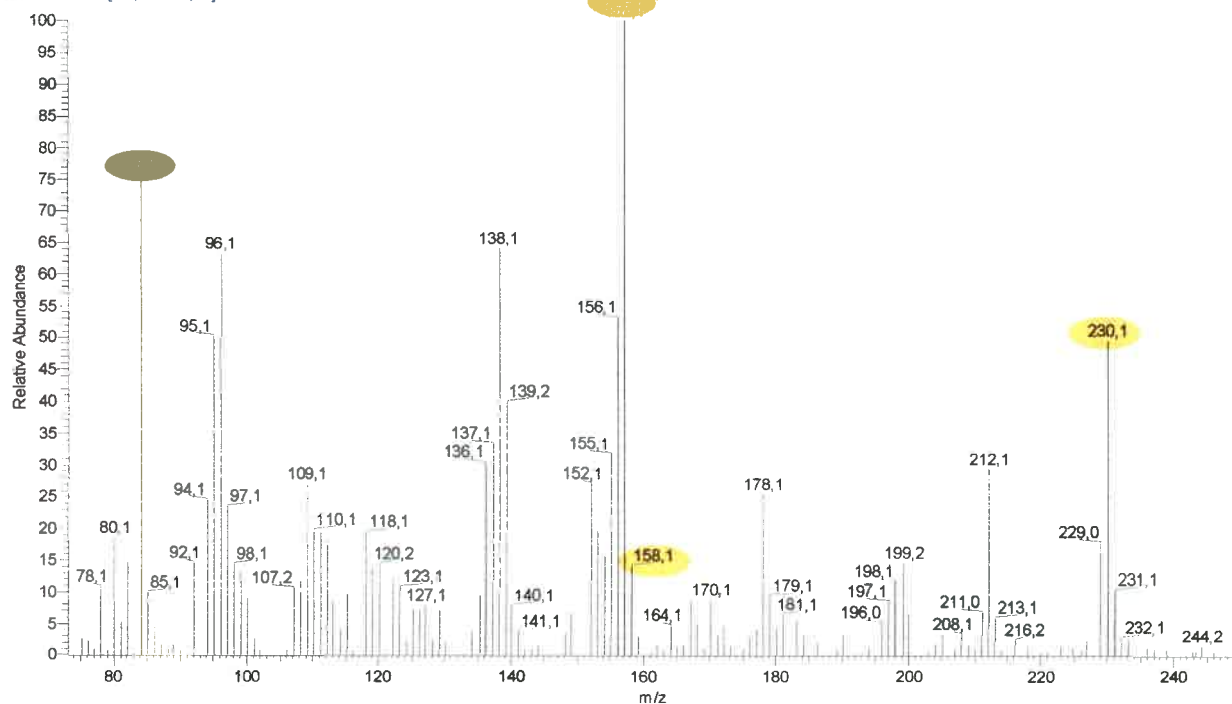
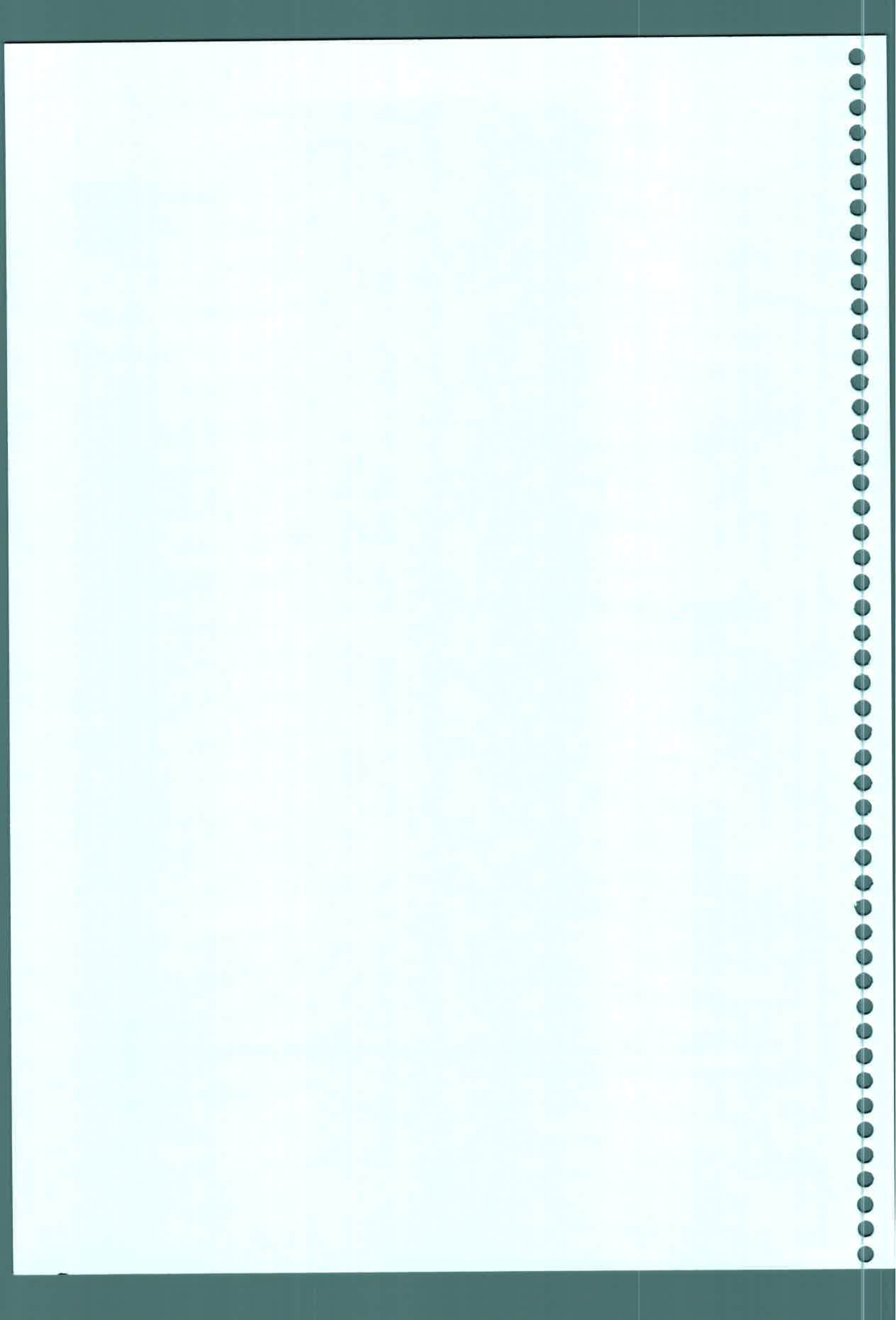
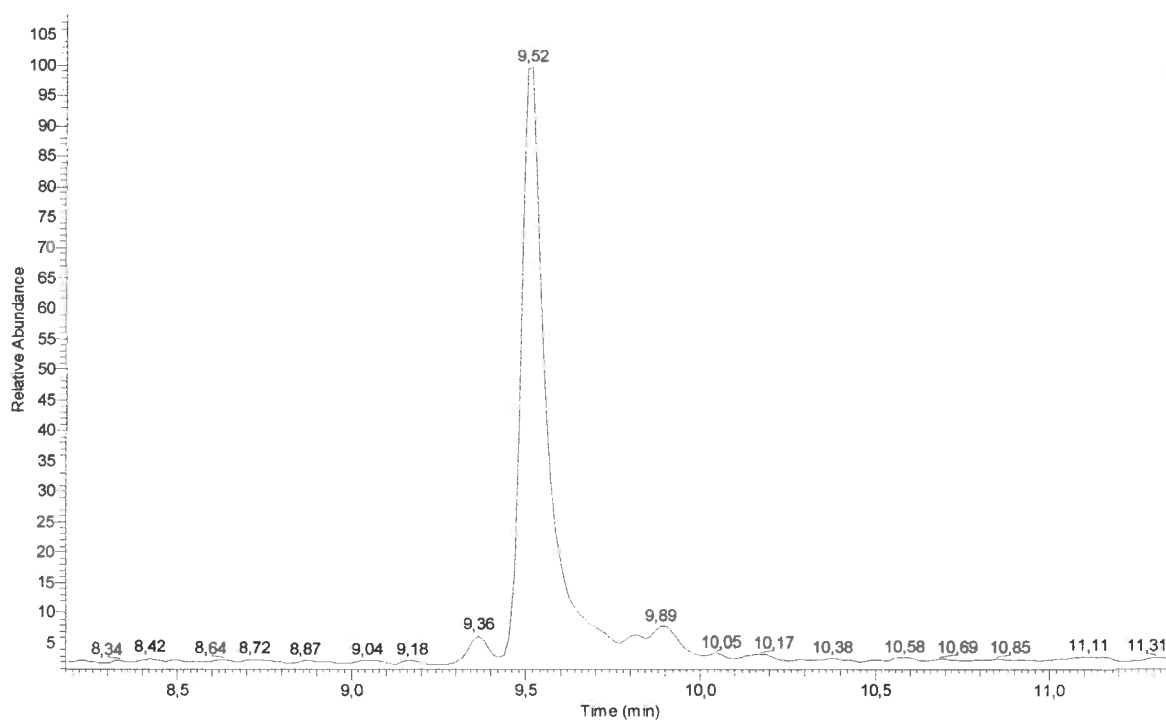
NL:
1,52E3
m/z=
229,5-230,5
MS 1303-131303-13#237 RT: 9,45 AV: 1 SB: 1 9,64 NL: 3,40E3
T: + c Full ms [75,00-400,00]

Fig. 21. Cromatografía gaseosa y espectrometría de masa (GC-MS) de JA estándar. En amarillo se indican los iones correspondientes a JA estándar.



RT: 8,18 - 11,36 SM: 7G



NL:
8,51E3
m/z=
223,5-224,5
MS 1303-13

1303-13#243 RT: 9,53 AV: 1 SB: 2 9,44, 8,97 NL: 1,54E4
T: + c Full ms [75,00-400,00]

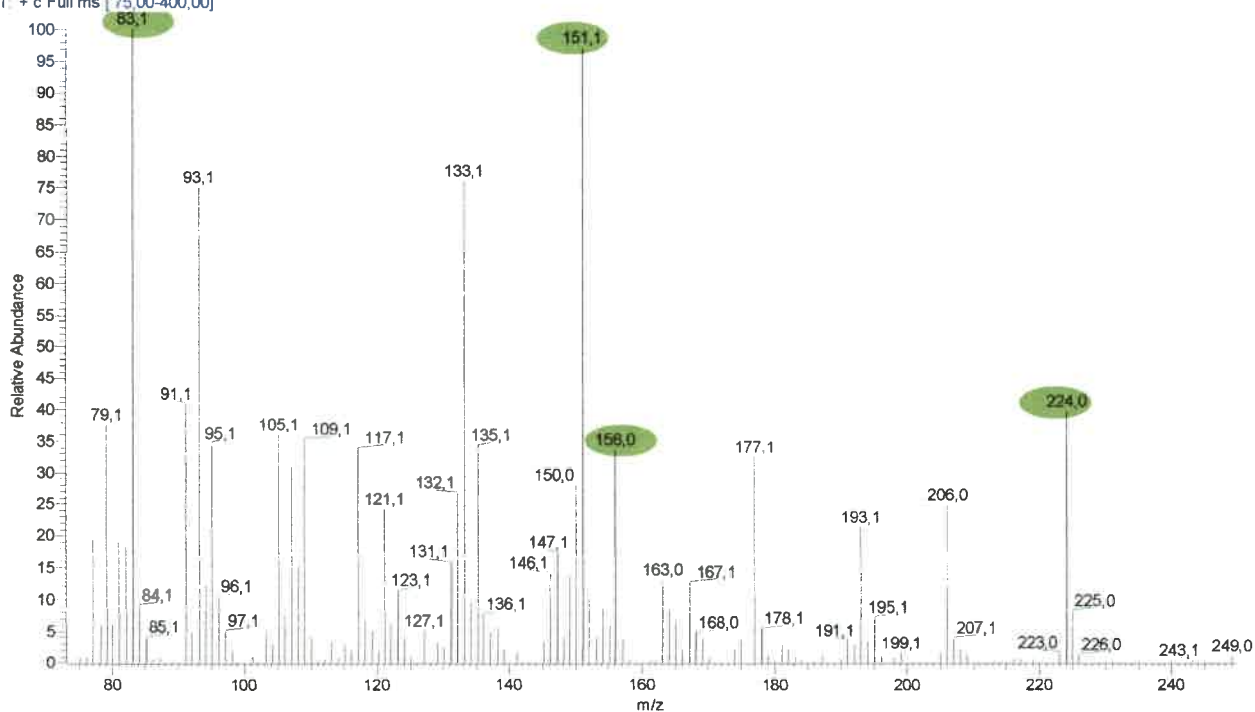
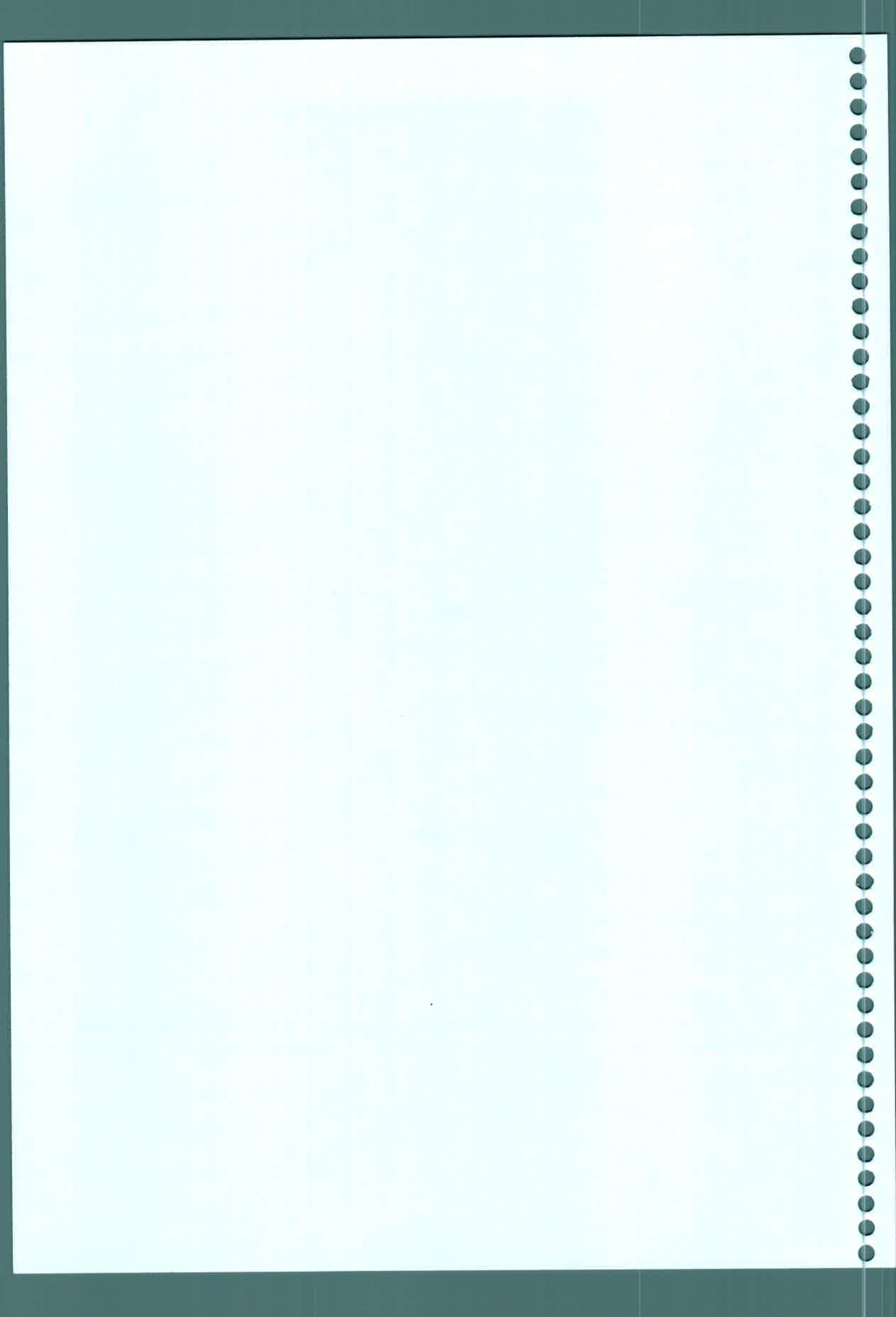


Fig. 22. Detección de JA por cromatografía gaseosa y espectrometría de masa (GC-MS) en tejidos del 1er estadio. En verde se indican los iones correspondientes a JA presente en la muestra.



2. Proteínas totales en estadios controles

Las determinaciones del contenido de proteínas totales no revelaron cambios significativos ($n=4$, $p < 0.05$) a lo largo de los estadios ontogénicos de la transformación de estolón a tubérculo, y sus valores fueron: 2.42 mg prot./g PS (1er estadio), 3.65 mg prot./g PS (2do estadio), 3.77 mg prot./g PS (3er estadio), y 3.82 mg prot./g PS (4to estadio). Por este motivo, los resultados que a continuación se presentan no fueron referidos al nivel de proteína encontrado para cada estadio.

3. Fósforo total de la fracción fosfolipídica en estadios controles

El contenido de fósforo total fosfolipídico fue evaluado en la fase inferior obtenida luego de la segunda extracción lipídica, en los estadios controles de la transformación de estolón a tubérculo. El análisis estadístico reveló una sostenida y significativa disminución del fósforo total fosfolipídico con el avance de la ontogenia; en el 4to estadio se registró una reducción del 67% de fósforo total con respecto al 1er estadio (Fig. 23, 50 y 51).

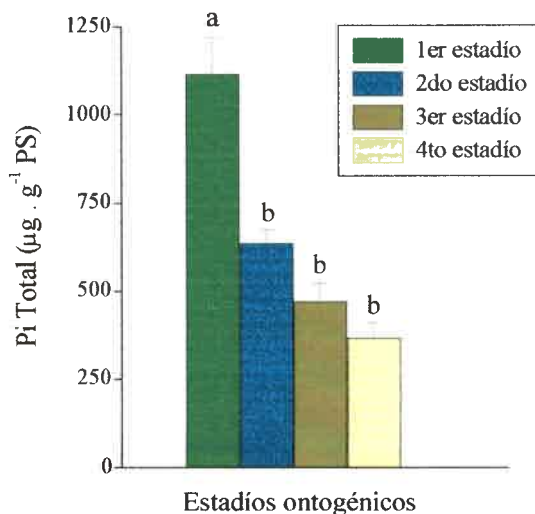
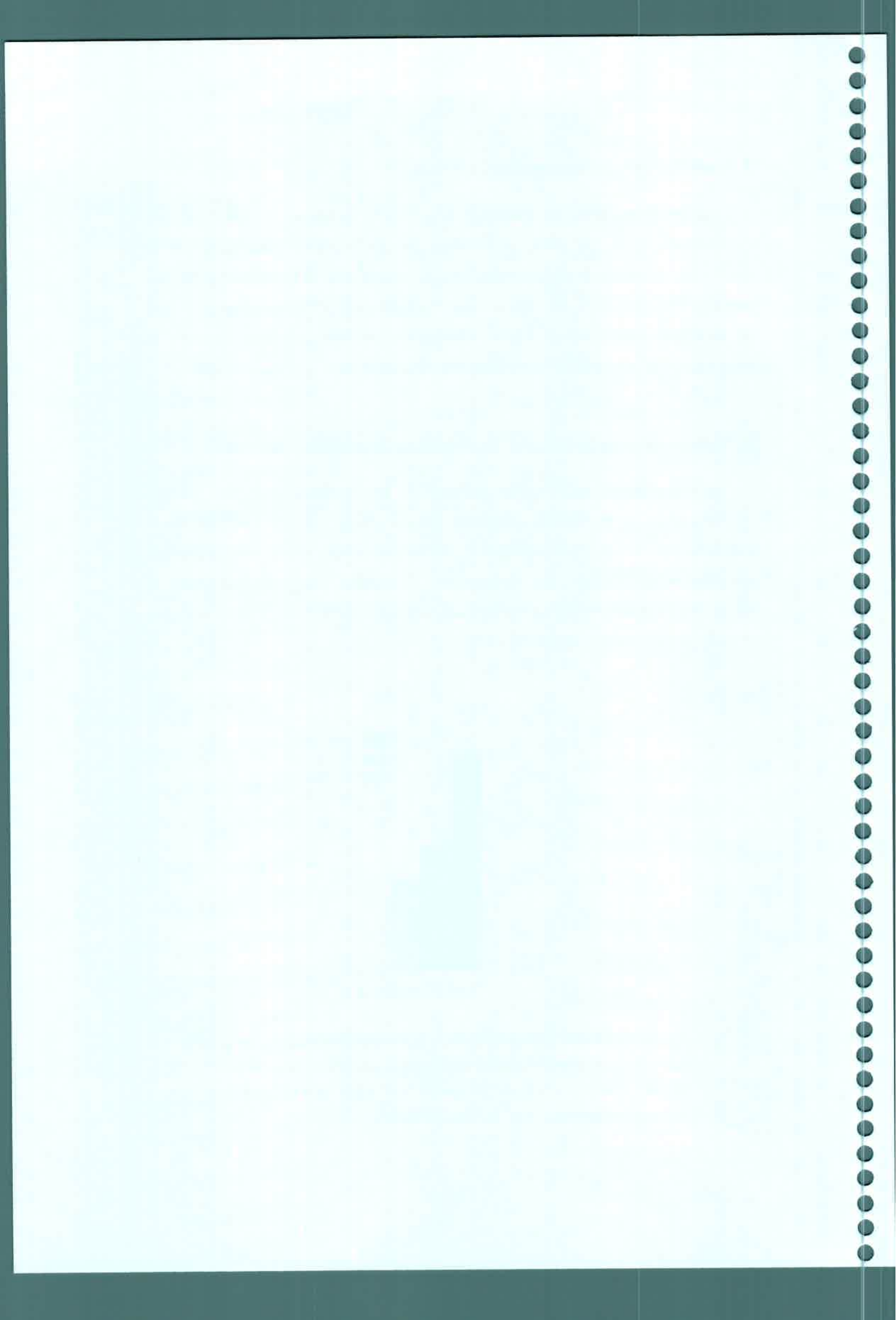


Fig. 23. Contenido de fósforo total de la fracción fosfolipídica en estadios controles de la transformación del estolón a tubérculo. 1er estadio, $n=11 \pm \text{SE}$; 2do estadio, $n=14 \pm \text{SE}$; 3er estadio, $n=8 \pm \text{SE}$; 4to estadio, $n=9 \pm \text{SE}$. Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0.05$.



4. Patrón fosfolipídico de estadíos controles

4.1. Identificación de fosfolípidos

Las especies fosfolipídicas identificadas en los estadíos controles fueron: fosfatidilinositol bisfosfato (**PIP₂**), fosfatidilinositol monofosfato (**PIP**), fosfatidilinositol (**PI**), fosfatidilserina (**PS**), fosfatidilcolina (**PC**), fosfatidiletanolamina (**PE**)- fosfatidilglicerol (**PG**), ácido fosfático (**PA**) y cardiolipina (**CL**) (Fig. 24).

Los fosfolípidos fueron visualizados mediante tinción con fosfomolibdato. Los valores de frentes de referencia (Rf) obtenidos en el sistema de solvente utilizado (clorformo/acetona/ácido acético/agua, 40:15:14:12:7, v/v) fueron: **PIP₂** 0.23, **PIP** 0.32, **PI** 0.40, **PS** 0.44, **PC** 0.49, **PE-PG** 0.56, **PA** 0.69 y **CL** 0.85. Cabe destacar que los fosfolípidos **PE** y **PG** no pudieron ser resueltos en el sistema de solvente empleado.

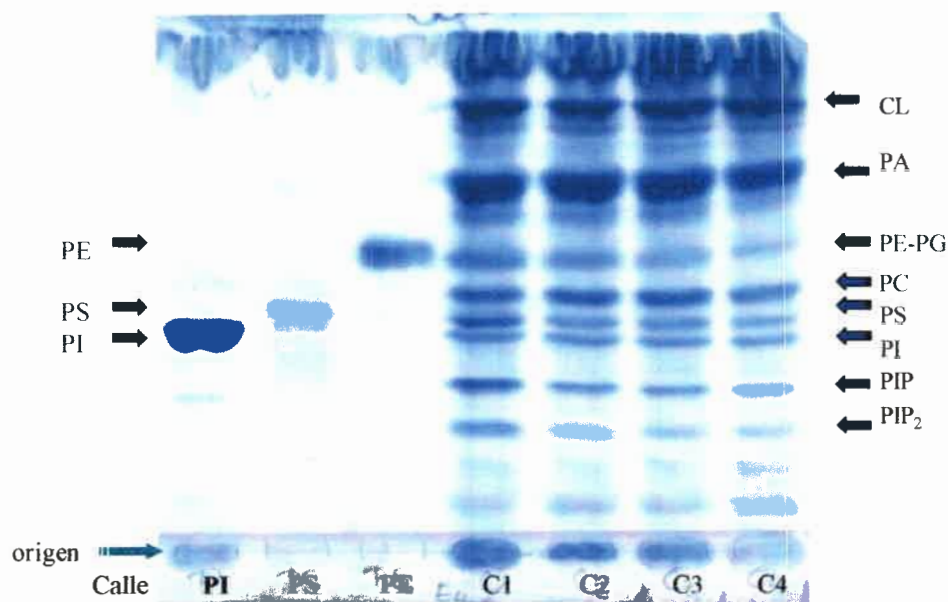
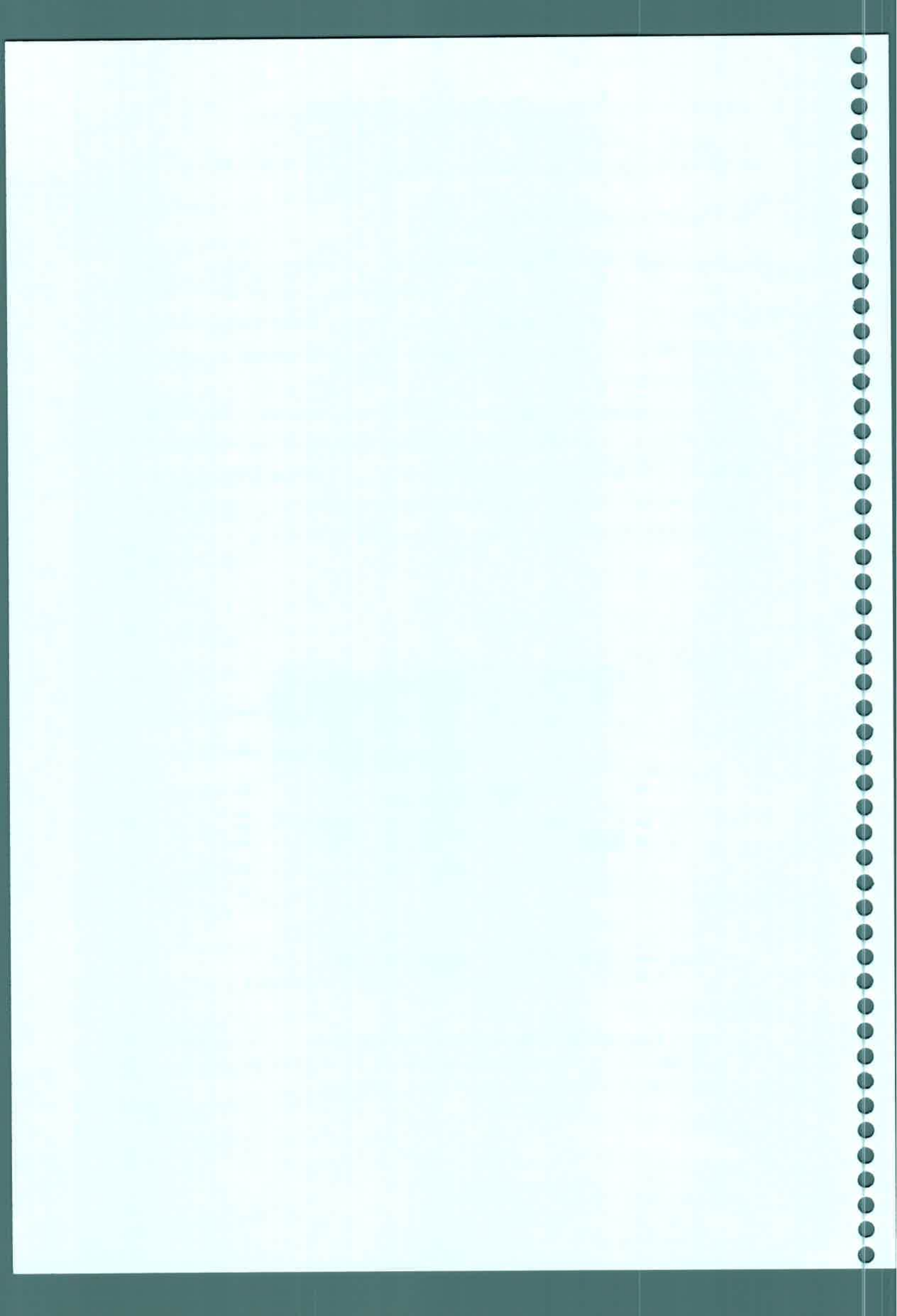


Fig. 24. Patrón de fosfolípidos de estadíos controles. **PI**, Fosfatidilinositol; **PS**, Fosfatidilserina; **PE**, Fosfatidiletanolamina; **C1**, Control 1er estadío; **C2**, Control 2do estadío; **C3**, Control 3er estadío; **C4**, Control 4to estadío.



4.2. Cuantificación de fósforo presente en fosfolípidos

Los resultados obtenidos de la cuantificación de fósforo presente en las diferentes especies fosfolípídicas de los estadios ontogénicos controles revelaron un predominio de PA en todos los estadios analizados (Fig. 25). Valores próximos a PA tuvieron PI, PIP y PIP₂ en el 1er estadio. En orden de abundancia le siguieron los fosfolípidos PE-PG, PS, PC y por último CL; los cuales disminuyeron con el avance de la tuberización.

El análisis estadístico del contenido de fósforo presente en las diferentes especies fosfolípídicas de estadios controles reveló una disminución significativa de todas las especies fosfolípídicas al avanzar la tuberización (Fig. 25 y 52).

Sin embargo, la relación entre especie fosfolípídica y fósforo total fosfolípídico indicó una disminución de PA (12%) y PS (34%) con el avance de la ontogenia. Los restantes fosfolípidos no se modificaron.

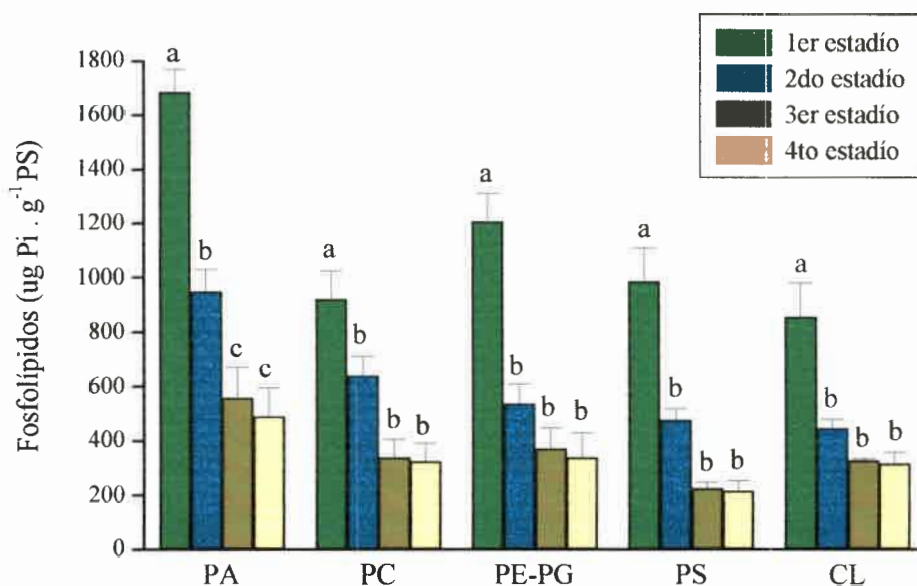


Fig. 25. Contenido de fósforo en fosfolípidos . g⁻¹ PS de tejidos controles. 1er y 2do estadio, n=12 ± SE; 3er y 4to estadio, n=5 ± SE. Letras diferentes indican diferencias significativas a p< 0.05.

El contenido de fosfoinosítidos también mostró disminución en etapas ontogénicas avanzadas (Fig. 26); la relación entre fosfoinosítido y fósforo total

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions and activities. It emphasizes the need for transparency and accountability in financial reporting.

2. The second part of the document outlines the various methods and techniques used to collect and analyze data. It covers both qualitative and quantitative research approaches, highlighting their strengths and limitations.

3. The third part of the document focuses on the ethical considerations surrounding data collection and analysis. It discusses the importance of informed consent, confidentiality, and the responsible use of research findings.

4. The fourth part of the document provides a detailed overview of the statistical methods used in the study. It includes a discussion of descriptive statistics, inferential statistics, and regression analysis.

5. The fifth part of the document presents the results of the study, including a detailed analysis of the data and the conclusions drawn from the findings. It also discusses the implications of the research for future studies and practice.

6. The sixth part of the document provides a comprehensive review of the literature related to the study. It identifies key research findings and discusses the theoretical and practical implications of the research.

7. The seventh part of the document discusses the limitations of the study and suggests areas for future research. It also provides a summary of the key findings and conclusions of the study.

8. The eighth part of the document provides a detailed description of the research methodology used in the study. It includes a discussion of the research design, data collection methods, and data analysis techniques.

9. The ninth part of the document provides a detailed description of the research findings. It includes a discussion of the key results and their implications for the field of study.

10. The tenth part of the document provides a detailed description of the research conclusions. It includes a discussion of the key findings and their implications for the field of study.

fosfolipídico mostró una disminución de PI (29%) en el 4to estadio respecto al 1er estadio.

Como se observa en la Fig. 26, los fosfoinosítidos PI, PIP y PIP₂ se encontraron en relación: 1:1:1, respectivamente en todos los estadios controles analizados.

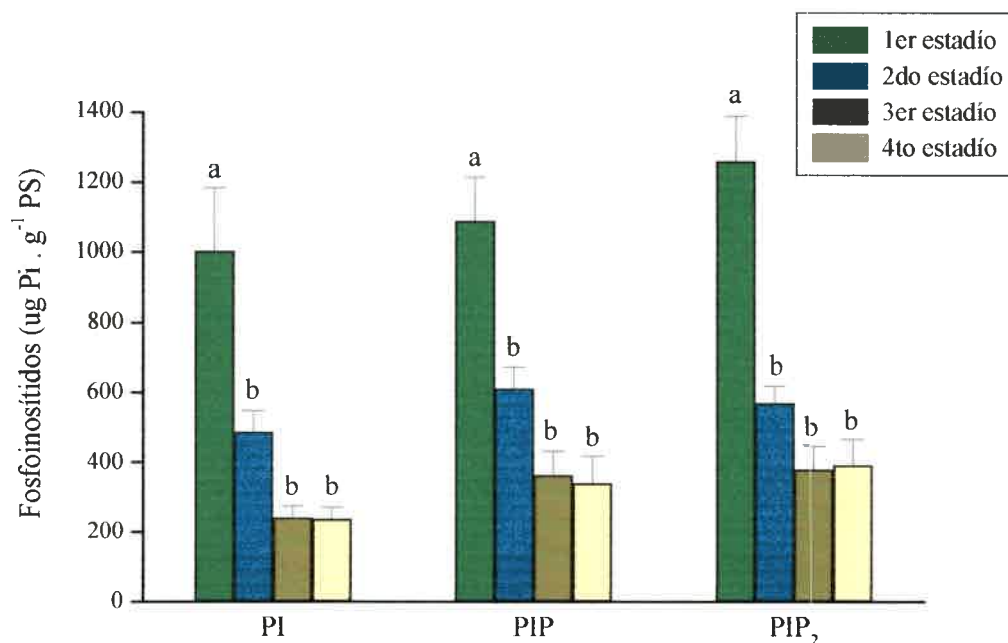


Fig. 26. Contenido de fósforo en fosfoinosítidos . g⁻¹ PS de tejidos controles. 1er y 2do estadio, n=12 ± SE; 3er y 4to estadio, n=5 ± SE. Letras diferentes indican diferencias significativas a p < 0.05.

5. Efecto de JA sobre el contenido de fósforo total fosfolipídico y el patrón de fosfolípidos del 1er y 2do estadio

5.1. Efecto de la estimulación con JA sobre el contenido de fósforo total fosfolipídico

Debido a que las modificaciones morfo-histológicas más importantes ocurren en las primeras etapas de la formación del tubérculo (1er y 2do estadio), el efecto de JA sobre el contenido de fósforo total fosfolipídico se evaluó en los mencionados estadios. El tratamiento hormonal de tejidos del 1er y 2do estadio no produjo cambios significativos del fósforo total fosfolipídico respecto al control con el



tiempo de estimulación (Fig. 27). Sin embargo el contenido de fósforo total fosfolipídico en el 1er estadio mostró una disminución significativa con el tiempo de incubación, resultados sin causa atribuible. En el 2do estadio no se observaron cambios con el tiempo de incubación (Fig. 27).

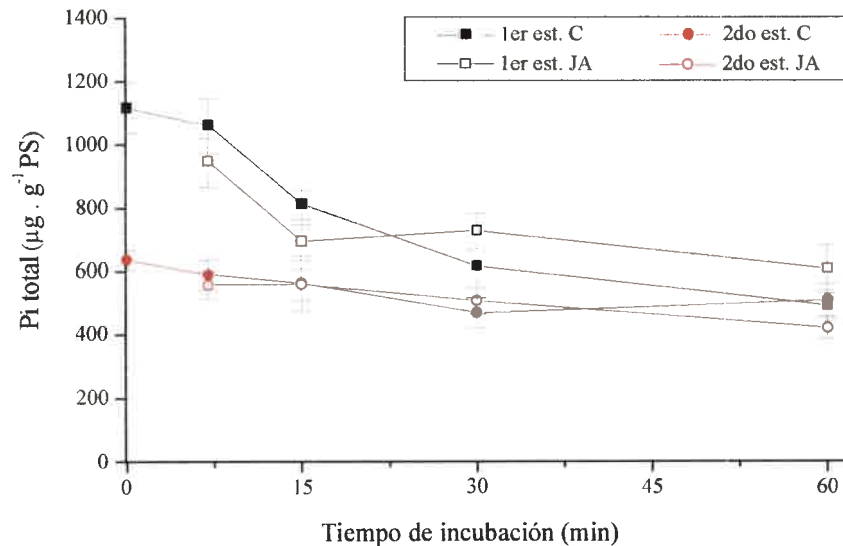
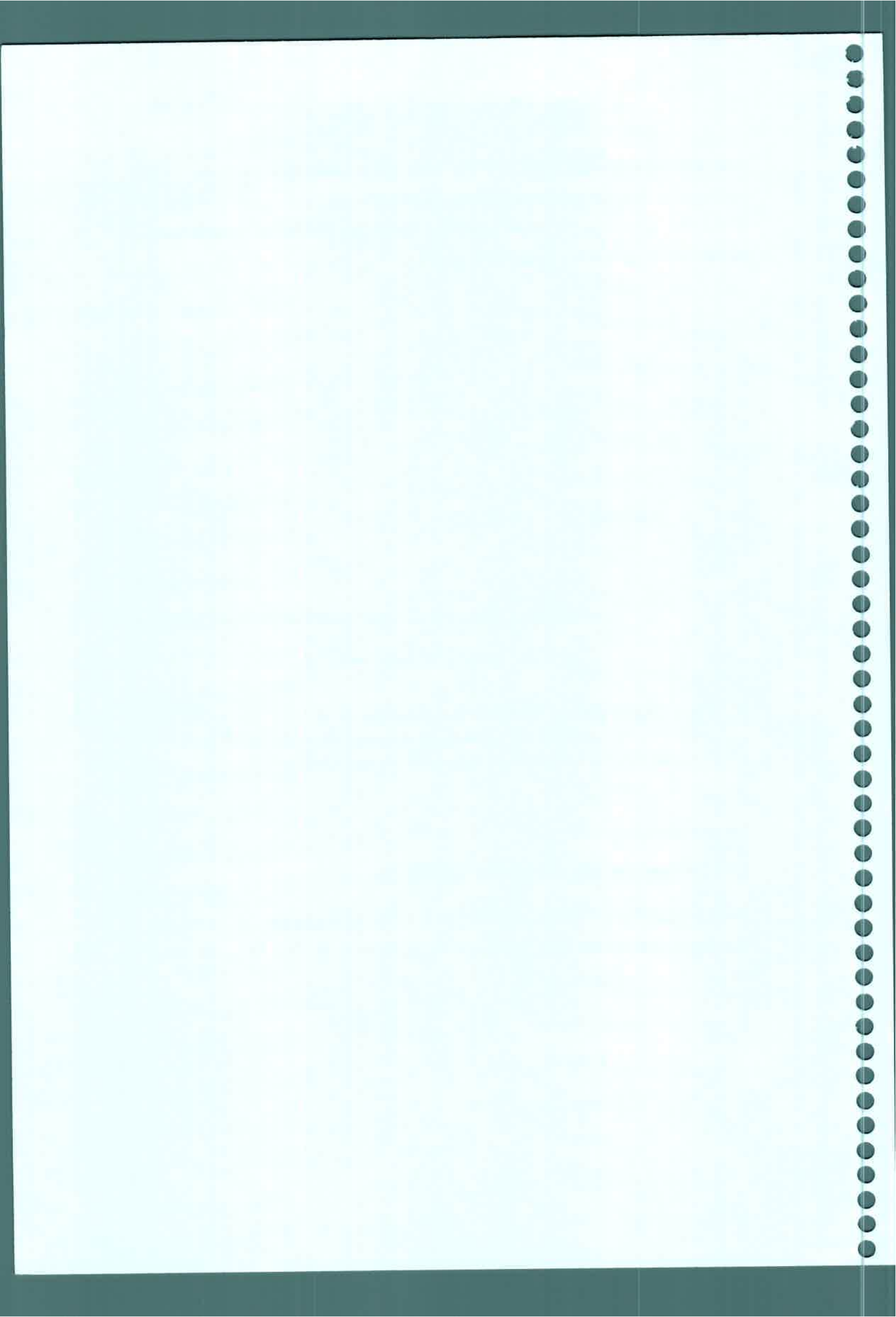


Fig. 27. Contenido de fósforo total fosfolipídico en el 1er y 2do estadio control y estimulado con JA a diferentes tiempos. 1er estadio, control y JA $n=5 \pm SE$; 2do estadio, control $n=6 \pm SE$; JA $n=9 \pm SE$; $p < 0.05$.

5.2. Efecto de JA sobre el patrón fosfolipídico

A continuación se muestra el patrón de fosfolípidos de tejidos del 1er estadio (Fig. 28) y 2do estadio (Fig. 29) luego de la estimulación con JA a diferentes tiempos.



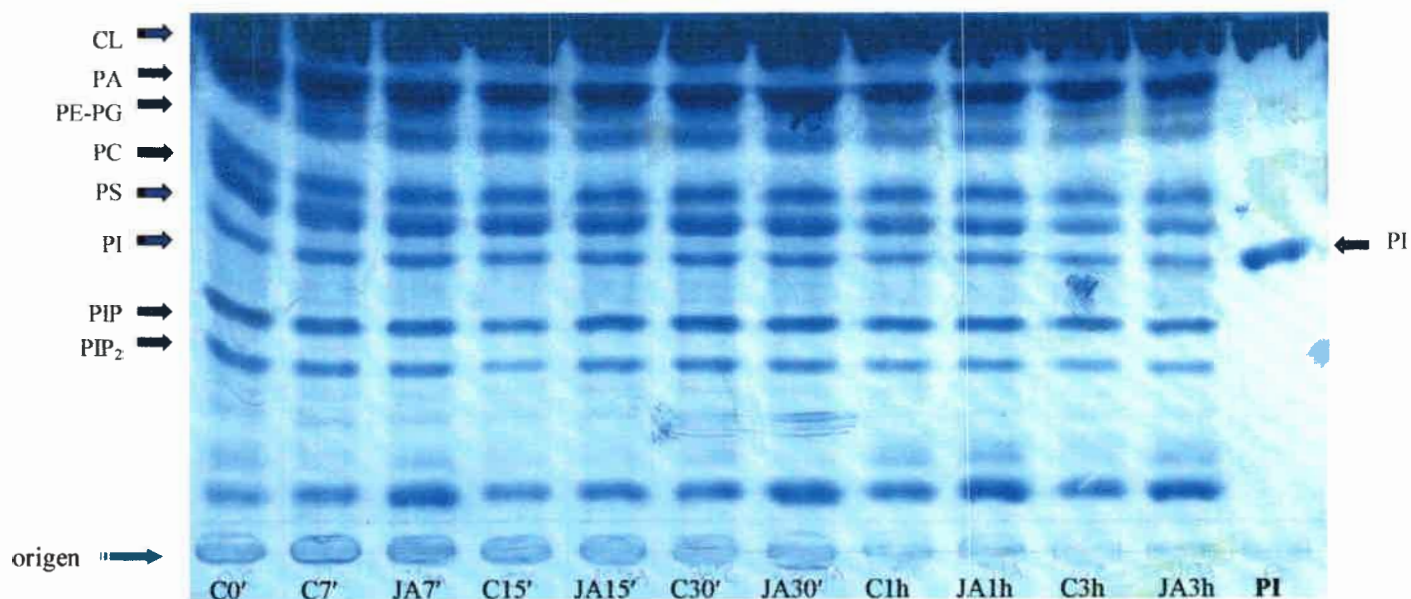


Fig. 28. Patrón de fosfolípidos de 1er estadio control y estimulado con JA a diferentes tiempos. TLC resuelta en el sistema de solvente: cloformo/acetona/ácido acético/agua, 40:15:14:12:7, v/v; teñida con fosfomolibdico. C, Control; JA, Ácido jasmónico; PI, Fosfatidilinositol.

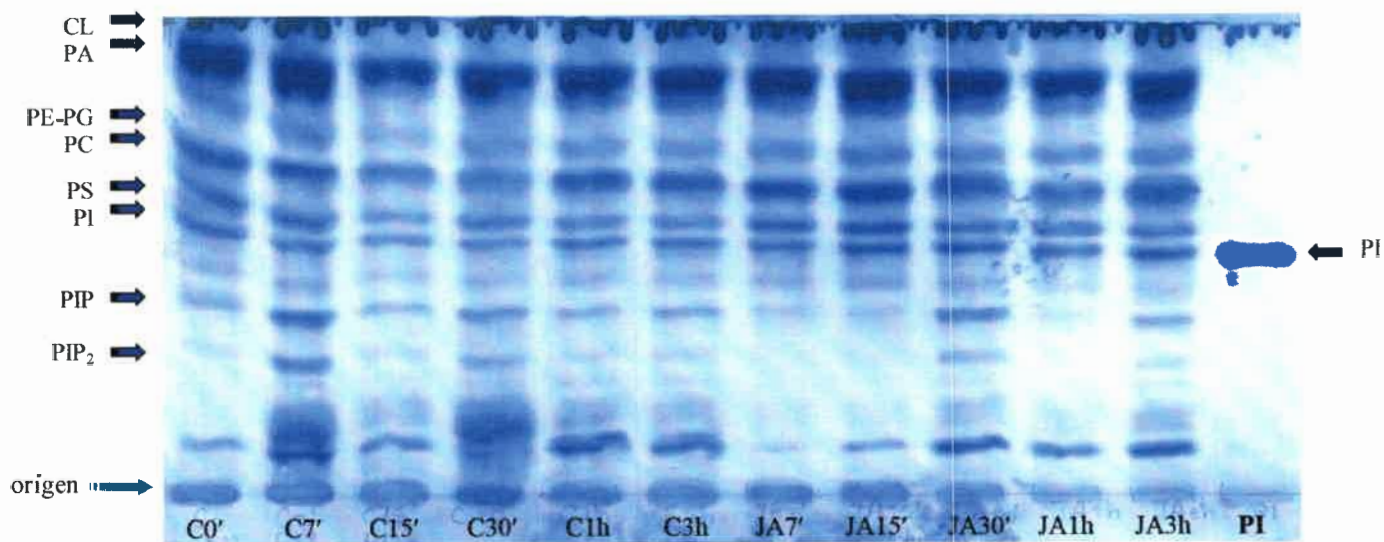
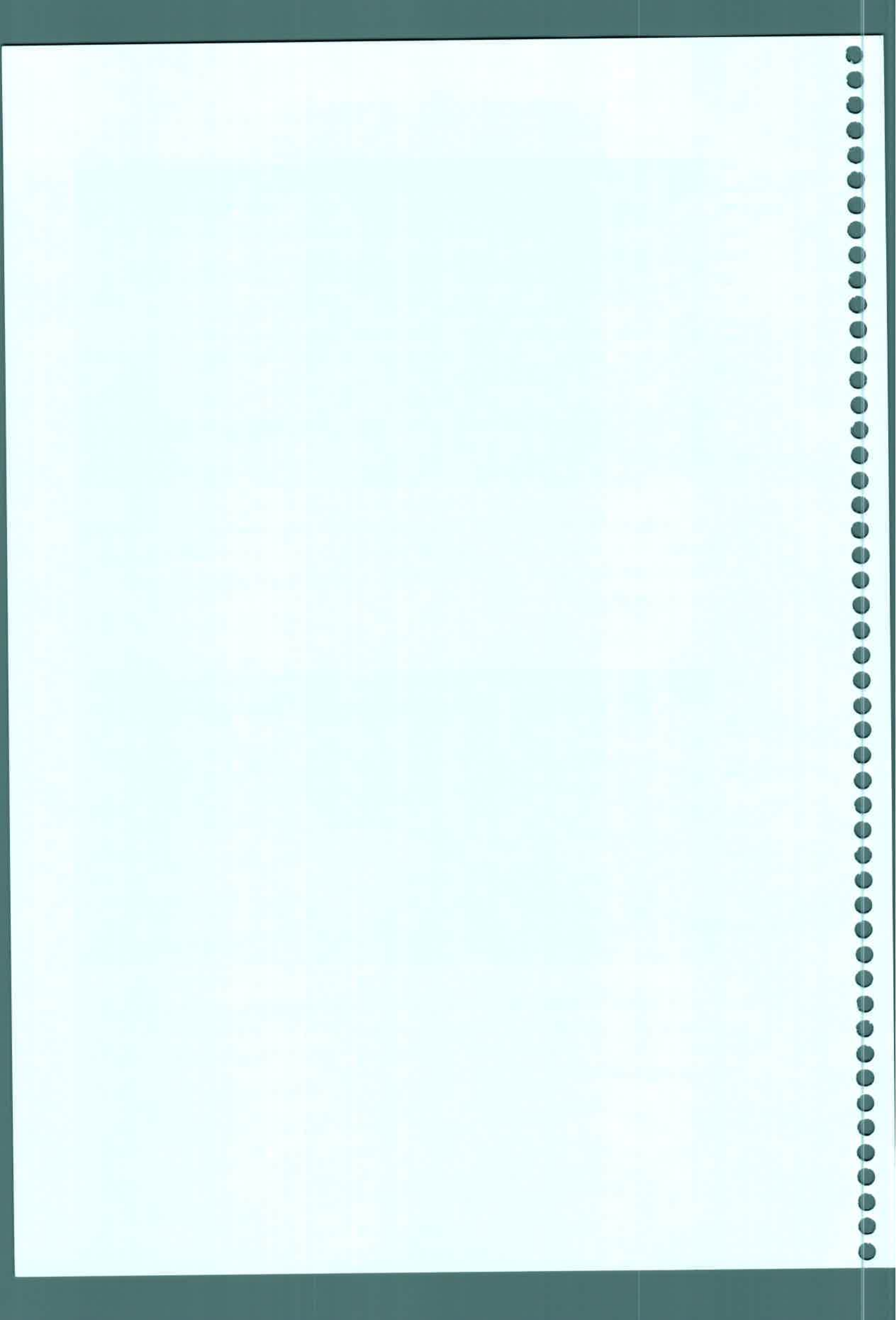


Fig. 29. Patrón de fosfolípidos de 2do estadio control y estimulado con JA a diferentes tiempos. TLC resuelta en el sistema de solvente: cloformo/acetona/ácido acético/agua, 40:15:14:12:7, v/v; teñida con fosfomolibdico. C, Control; JA, Ácido jasmónico; PI, Fosfatidilinositol.



5.3. Efecto de JA sobre el contenido de fósforo presente en las diferentes especies fosfolipídicas

La estimulación de los tejidos del 1er estadio con JA produjo cambios en PC y PS a los 30 y 60 min (Fig. 30 y 31). El contenido de PC disminuyó 41% a los 30 min (Fig. 30 y 53) y 34% a los 60 min (Fig. 30 y 54) por efecto de JA. Sin embargo, en el 2do estadio la estimulación hormonal no modificó este fosfolípido.

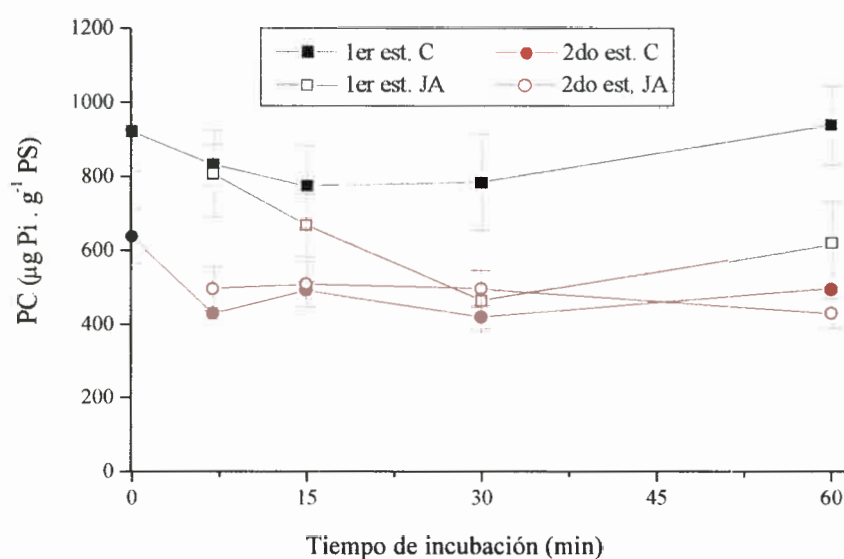
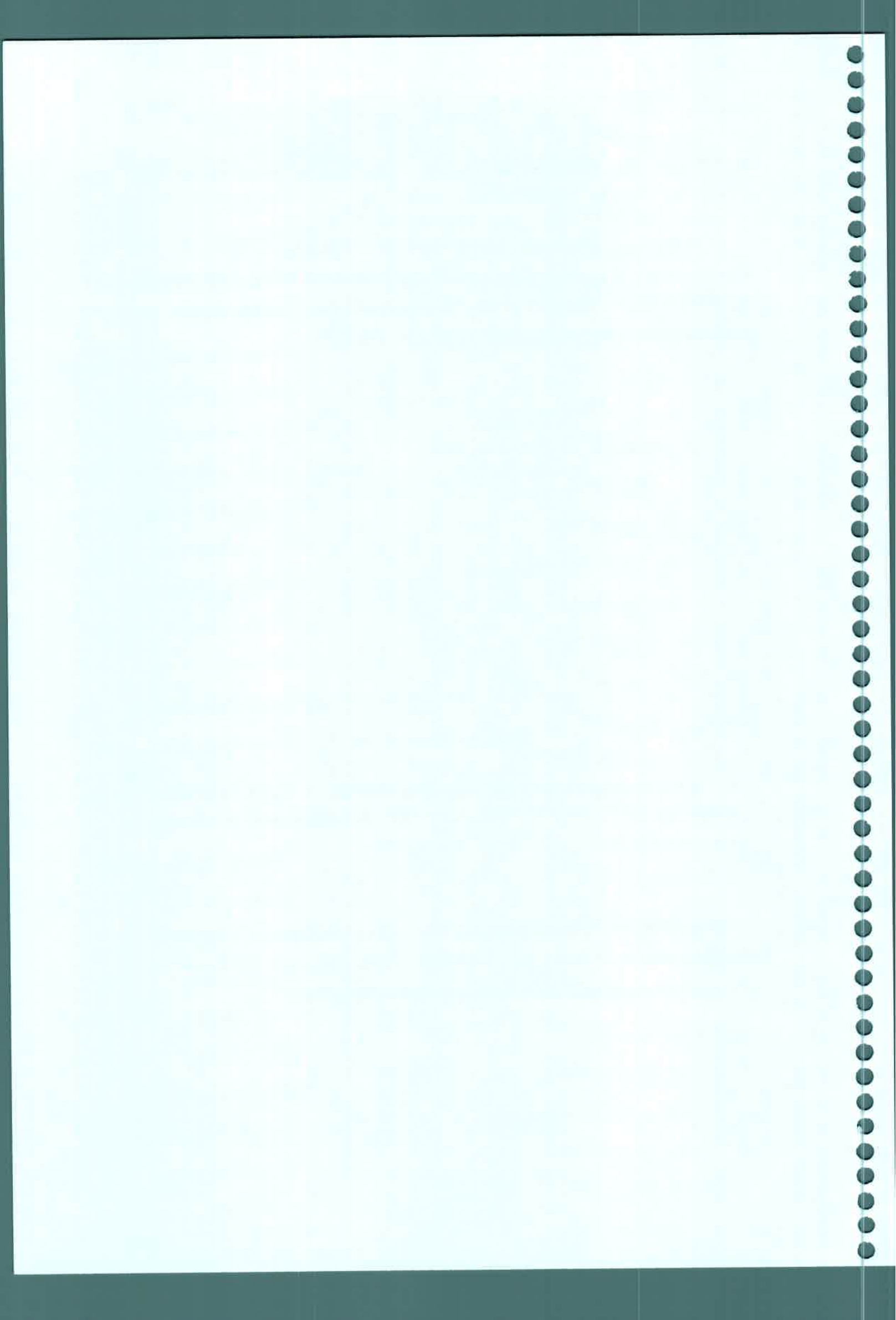


Fig. 30. Contenido de PC · g⁻¹ PS de tejido control y estimulado con JA a diferentes tiempos. 1er estadio, control n=5 ± SE; JA n=5 ± SE; 2do estadio, control n=3 ± SE; JA n=7 ± SE; p< 0.05.

JA también causó disminución significativa de PS a los 30 min (39%) y a los 60 min (52%) respecto al control 1er estadio (Fig. 31, 55 y 56). En el 2do estadio no hubo diferencia significativa entre control y tratado con JA (Fig. 31).



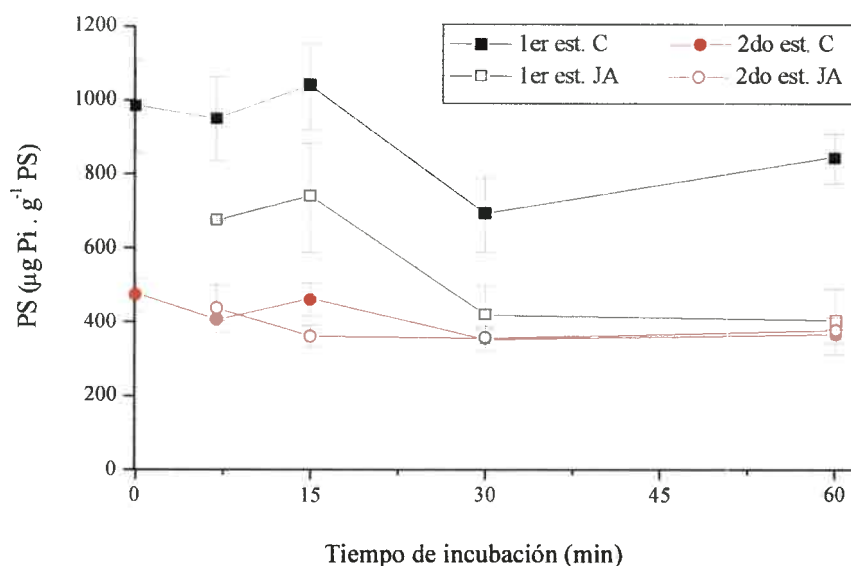
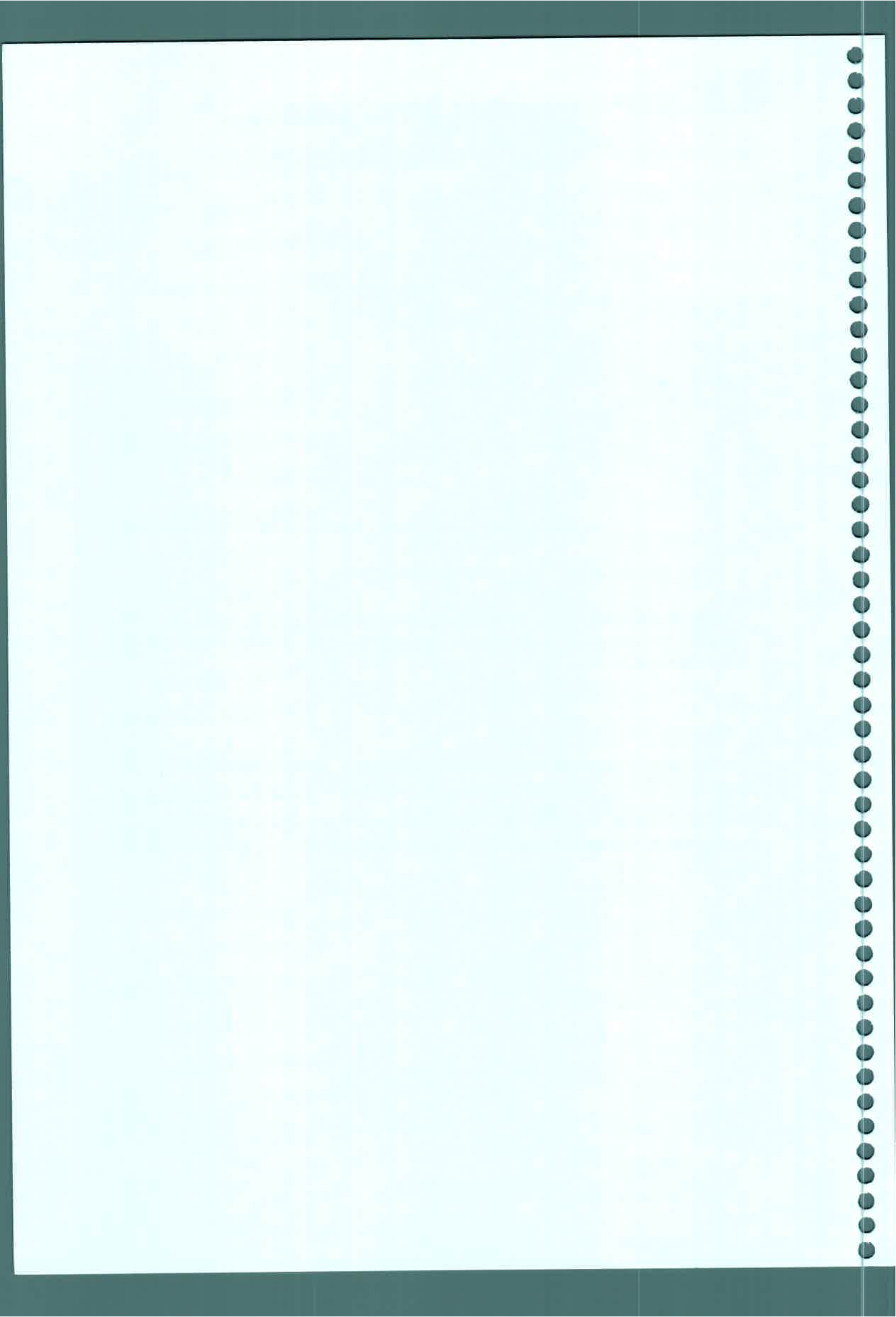


Fig. 31. Contenido de PS . g⁻¹ PS de tejido control y estimulado con JA a diferentes tiempos. 1er estadio, control n=5 ± SE; JA n=5 ± SE; 2do estadio, control n=3 ± SE; JA n=7 ± SE; p< 0.05.

Con el avance de la ontogenia, cambios significativos en PA se registraron por efecto de JA en el 2do estadio; un incremento de 41% a los 30 min respecto al control se determinó para PA (Fig. 32 y 57). Los niveles de PA se diferenciaron significativamente entre ambos estadios en todos los tiempos de incubación, excepto a los 60 min (Fig. 32).



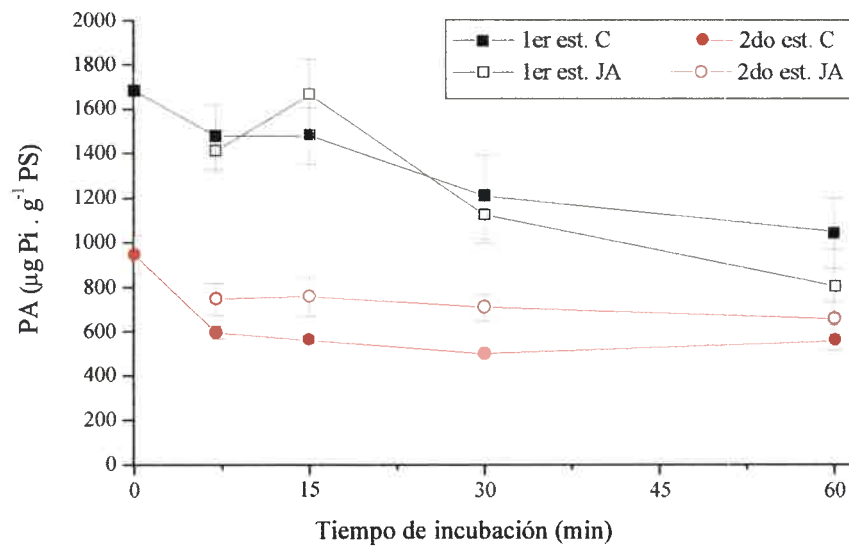


Fig. 32. Contenido de PA . g^{-1} PS de tejido control y estimulado con JA a diferentes tiempos. 1er estadio, control $n=5 \pm SE$; JA $n=5 \pm SE$; 2do estadio, control $n=3 \pm SE$; JA $n=7 \pm SE$; $p < 0.05$.

Por otra parte, JA no modificó el contenido de PE-PG (Fig. 33) y CL (Fig. 34) en el 1er y 2do estadio respecto al control.

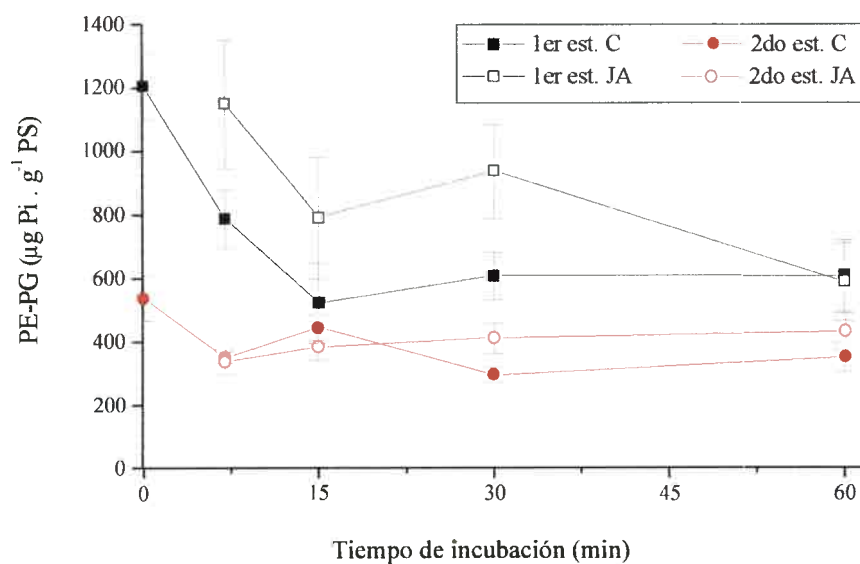
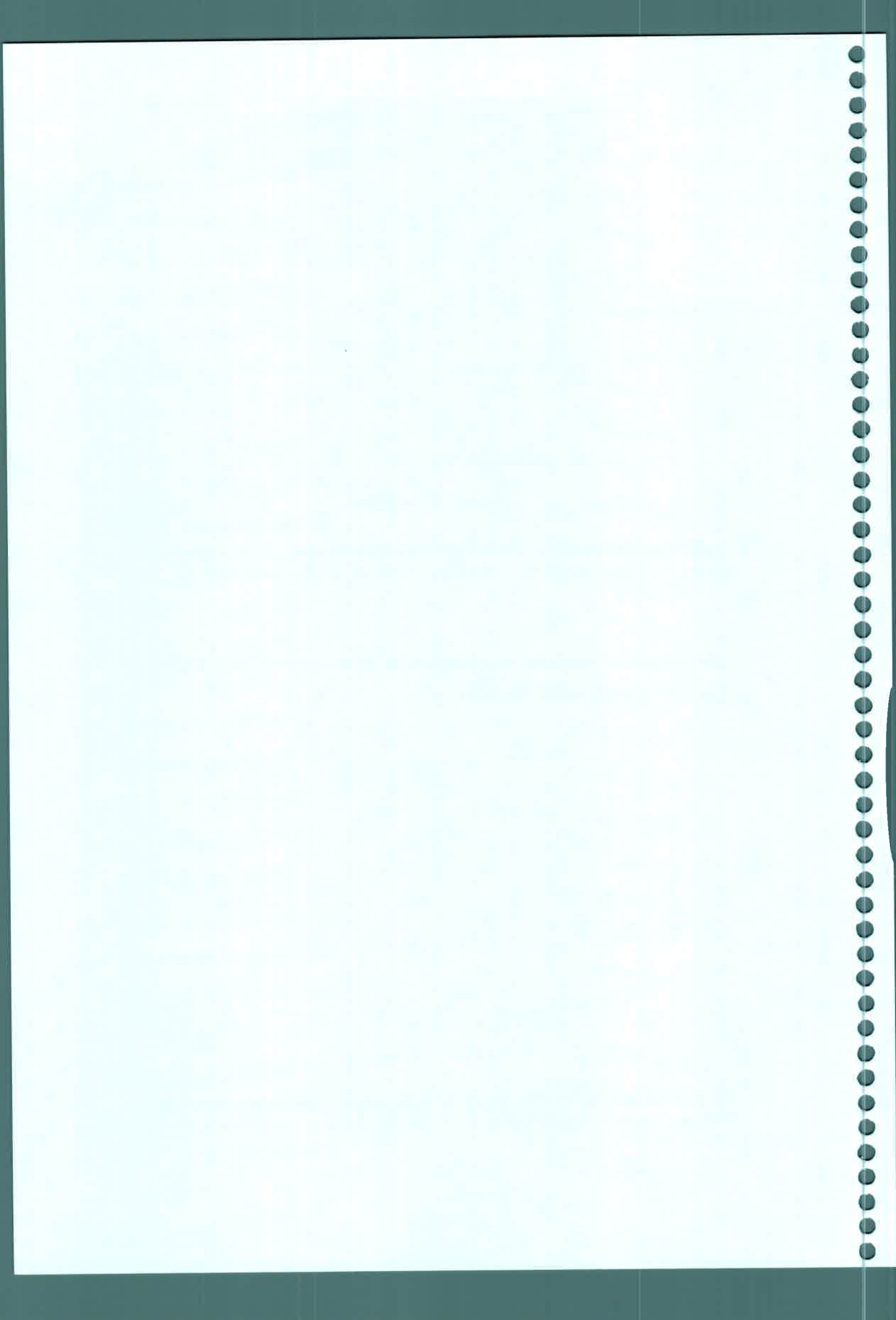


Fig. 33. Contenido de PE-PG . g^{-1} PS de tejido control y estimulado con JA a diferentes tiempos. 1er estadio, control $n=4 \pm SE$; JA $n=5 \pm SE$; 2do estadio, control $n=3 \pm SE$; JA $n=7 \pm SE$; $p < 0.05$.



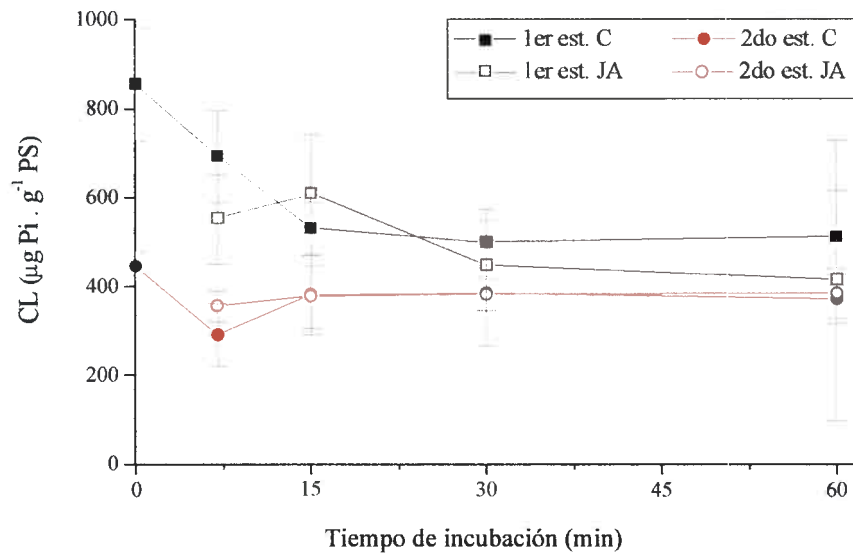
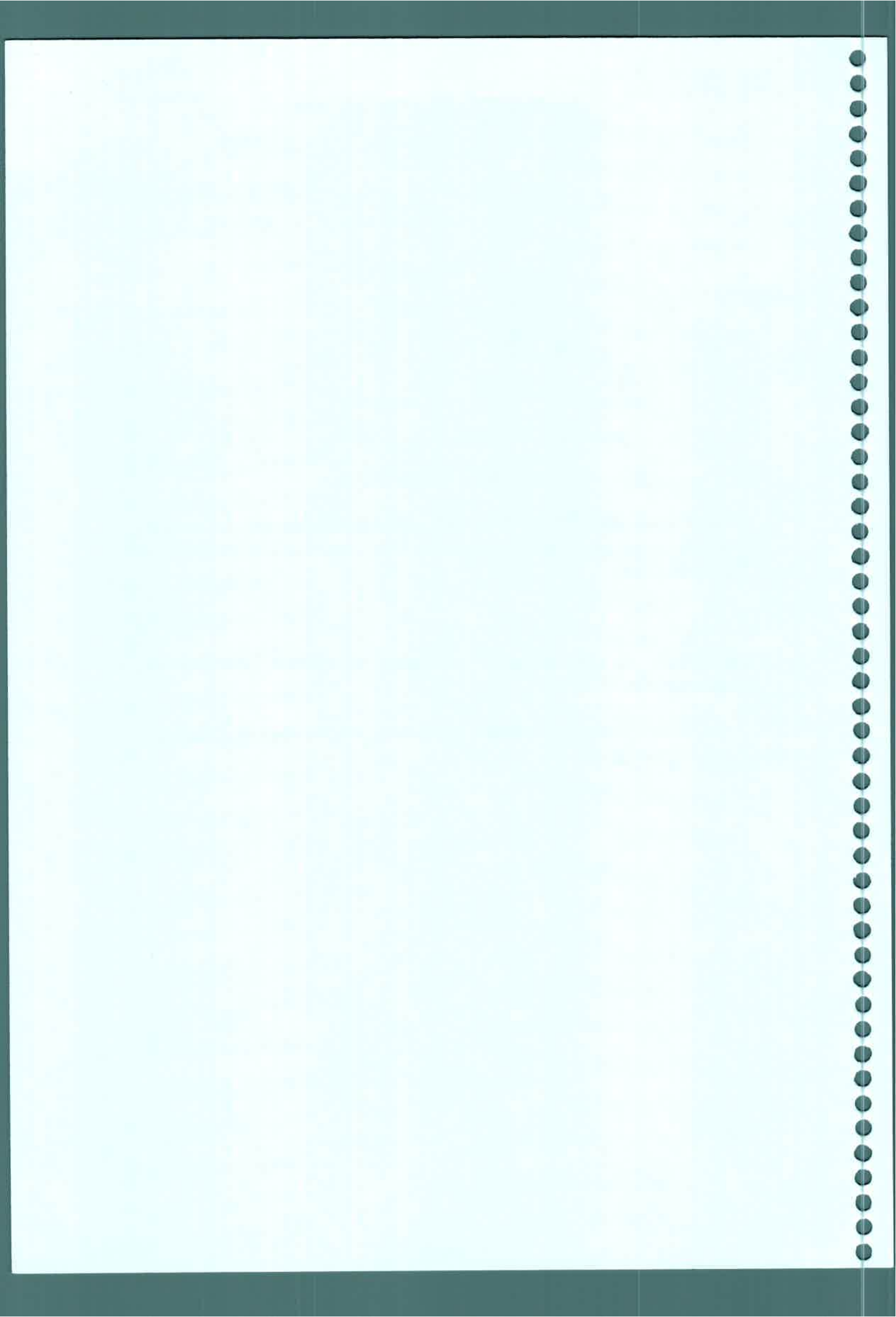


Fig. 34. Contenido de CL . g^{-1} PS de tejido control y estimulado con JA a diferentes tiempos. 1er estadio, control $n=6 \pm SE$; JA $n=4 \pm SE$; 2do estadio, control $n=3 \pm SE$; JA $n=4 \pm SE$; $p < 0.05$.

5.4. Efecto de JA sobre el contenido de fósforo presente en fosfoinosítidos

Los fosfoinosítidos no modificaron su contenido en respuesta a la estimulación con JA (Fig. 35, 36 y 37).



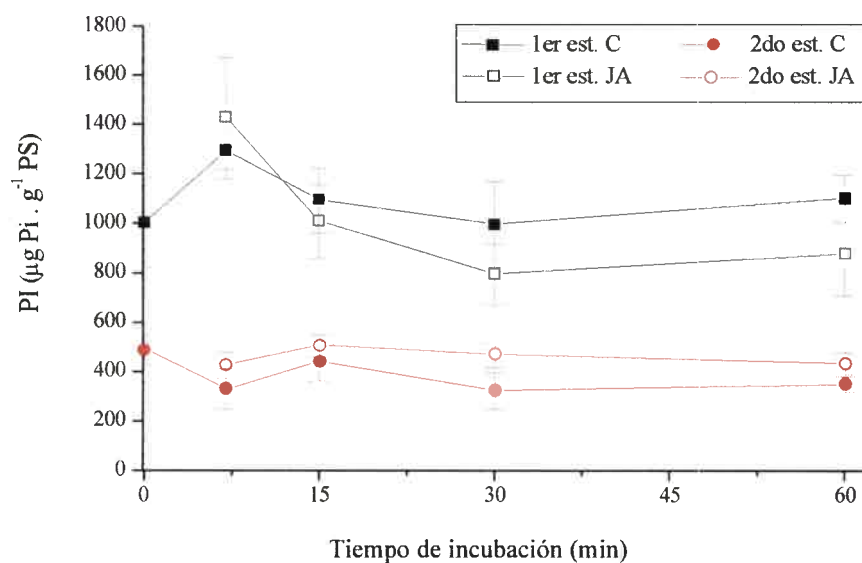


Fig. 35. Contenido de PI $\cdot \text{g}^{-1}$ PS de tejido control y estimulado con JA a diferentes tiempos. 1er estadio, control $n=5 \pm \text{SE}$; JA $n=4 \pm \text{SE}$; 2do estadio, control $n=3 \pm \text{SE}$; JA $n=7 \pm \text{SE}$; $p < 0.05$.

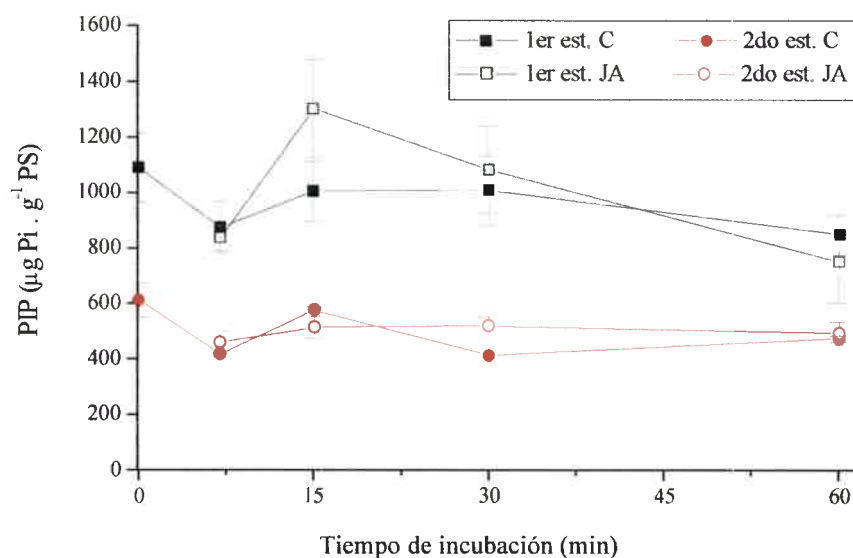
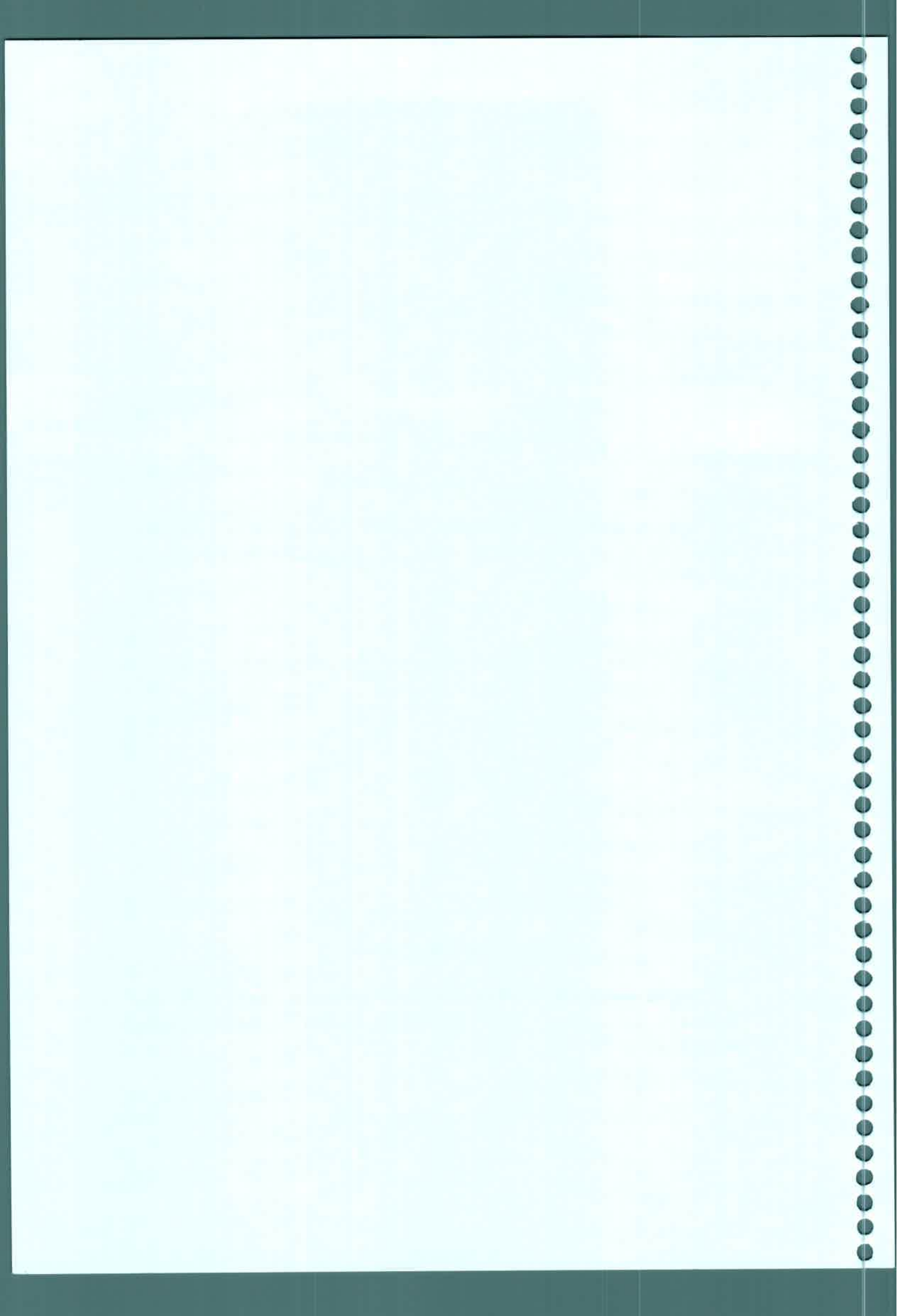


Fig. 36. Contenido de PIP $\cdot \text{g}^{-1}$ PS de tejido control y estimulado con JA a diferentes tiempos. 1er estadio, control $n=5 \pm \text{SE}$; JA $n=4 \pm \text{SE}$; 2do estadio, control $n=3 \pm \text{SE}$; JA $n=7 \pm \text{SE}$; $p < 0.05$.



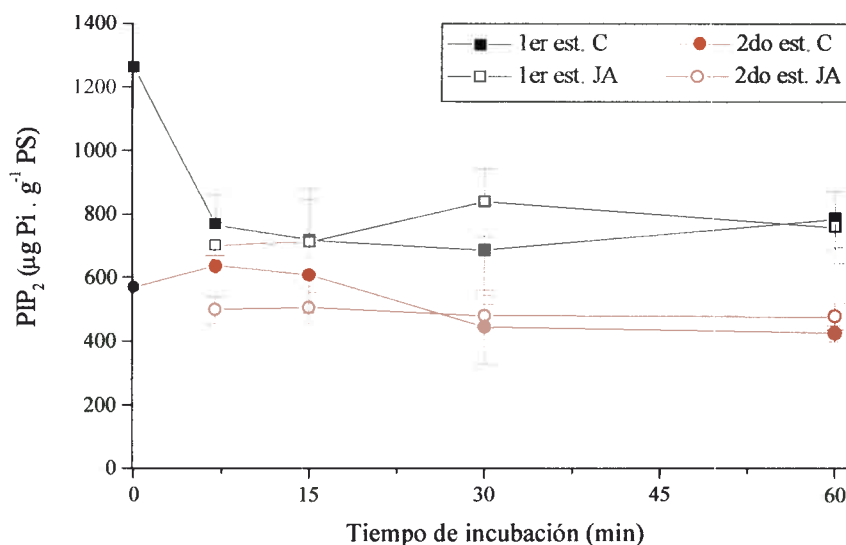


Fig. 37. Contenido de PIP₂ . g⁻¹ PS de tejido control y estimulado con JA a diferentes tiempos. 1er estadio, control n=4 ± SE; JA n=5 ± SE; 2do estadio, control n=3 ± SE; JA n=7 ± SE; p< 0.05.

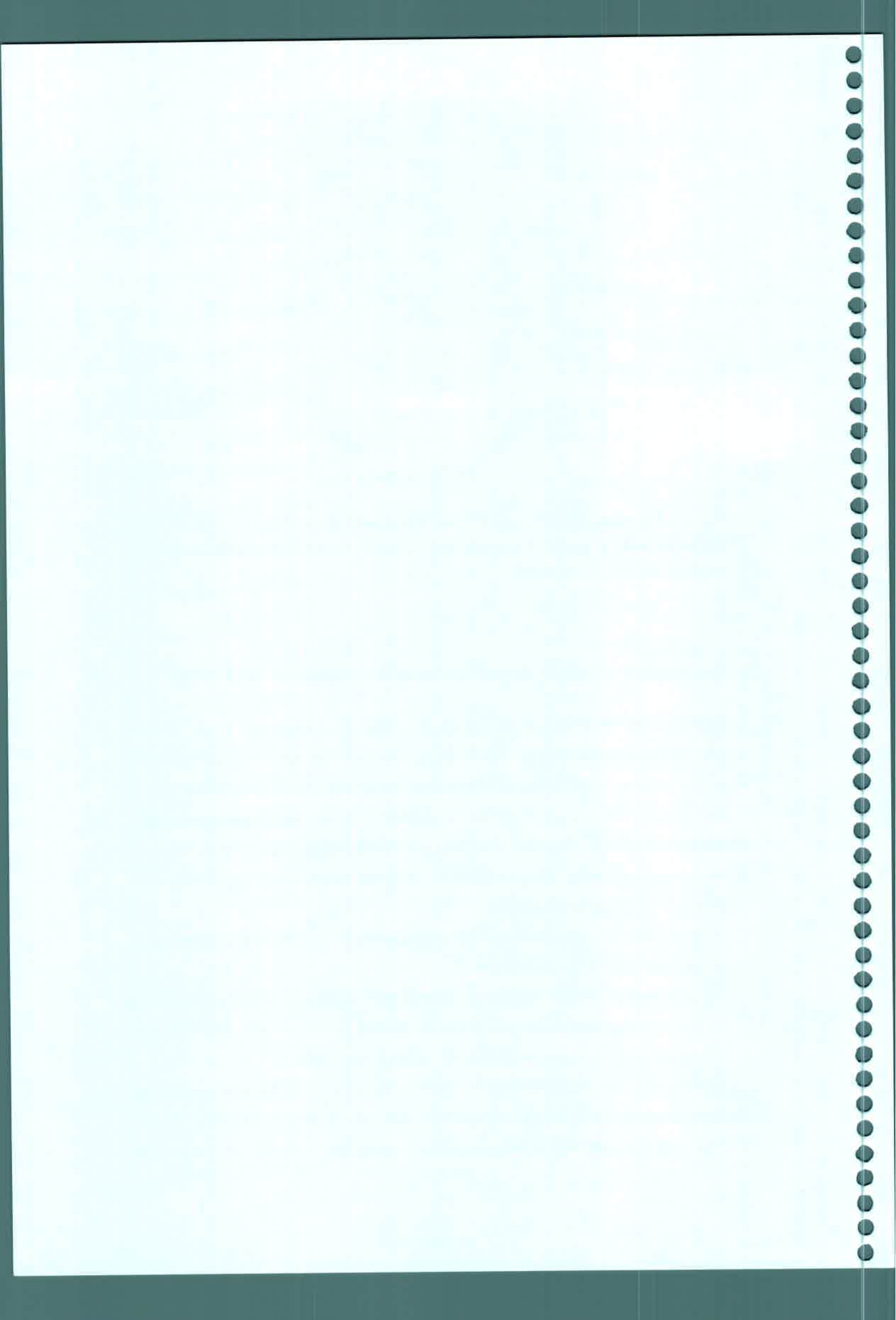
6. Morfología e histología del meristema apical y subapical del estolón

Mediante la observación de cortes histológicos longitudinales de ápices correspondientes al 1er y 2do estadio de la transición de estolón a tubérculo se identificaron los tipos celulares que constituyen el meristema apical y subapical.

En el meristema apical del estolón se pueden observar células que permanecen meristemáticas (células iniciales) y células que se diferencian para transformarse en elementos de los distintos tejidos (células derivadas de las iniciales) agrupadas bajo el nombre de los siguientes meristemas:

1. *Protodermis*, correspondiente a la capa externa de la túnica que dará origen al sistema epidérmico de la planta.
2. *Procambium*, a partir del cual se desarrollan los tejidos vasculares primarios.
3. *Meristema fundamental*, que como su nombre lo indica dará origen en este caso al parénquima como uno de los tejidos fundamentales.

En base al plano de división de las células iniciales, en el meristema apical se diferencian dos zonas: la **túnica**, capa celular más externa, biestratificada, en la cual las divisiones son anticlinales (perpendicular a la superficie de la túnica), y el **cuerpo**



en el cual las células se dividen anticlinalmente y periclinalmente (paralela a la superficie). En el cuerpo se distinguen tres zonas:

1. *Zona central*, ubicada inmediatamente por debajo de la túnica, abarcando las *células madre centrales*,
2. *Zona medular*, correspondiente al *meristema medular*, cuyas células se disponen generalmente en hileras.
3. *Zona periférica*, correspondiente al *meristema periférico*, constituido por células derivadas que contribuyen al desarrollo del primordio foliar, la corteza, parte del procambium, y a veces la región externa de la médula (Fig. 38).

La túnica crece en área superficial debido a las divisiones anticlinales, mientras que las células del cuerpo al dividirse en ambas direcciones contribuyen al crecimiento en volumen, constituyendo así la masa principal del meristema. Por debajo del meristema apical existe una extensa zona subapical cuya actividad mitótica es intensa, por lo que contribuye a la elongación celular.

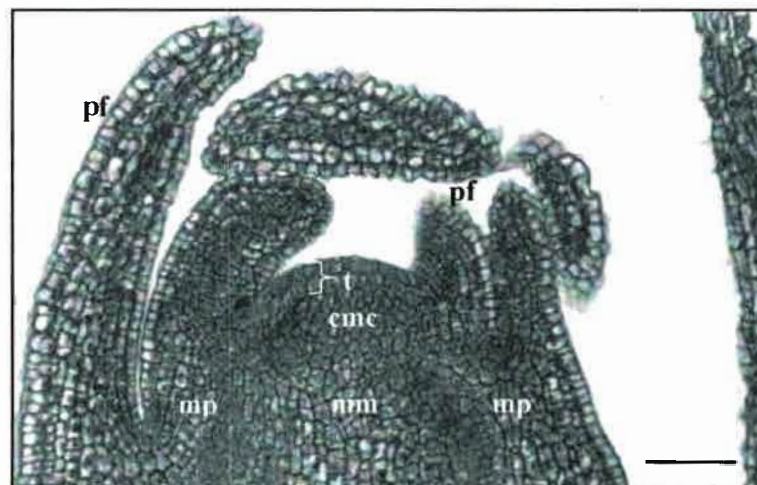
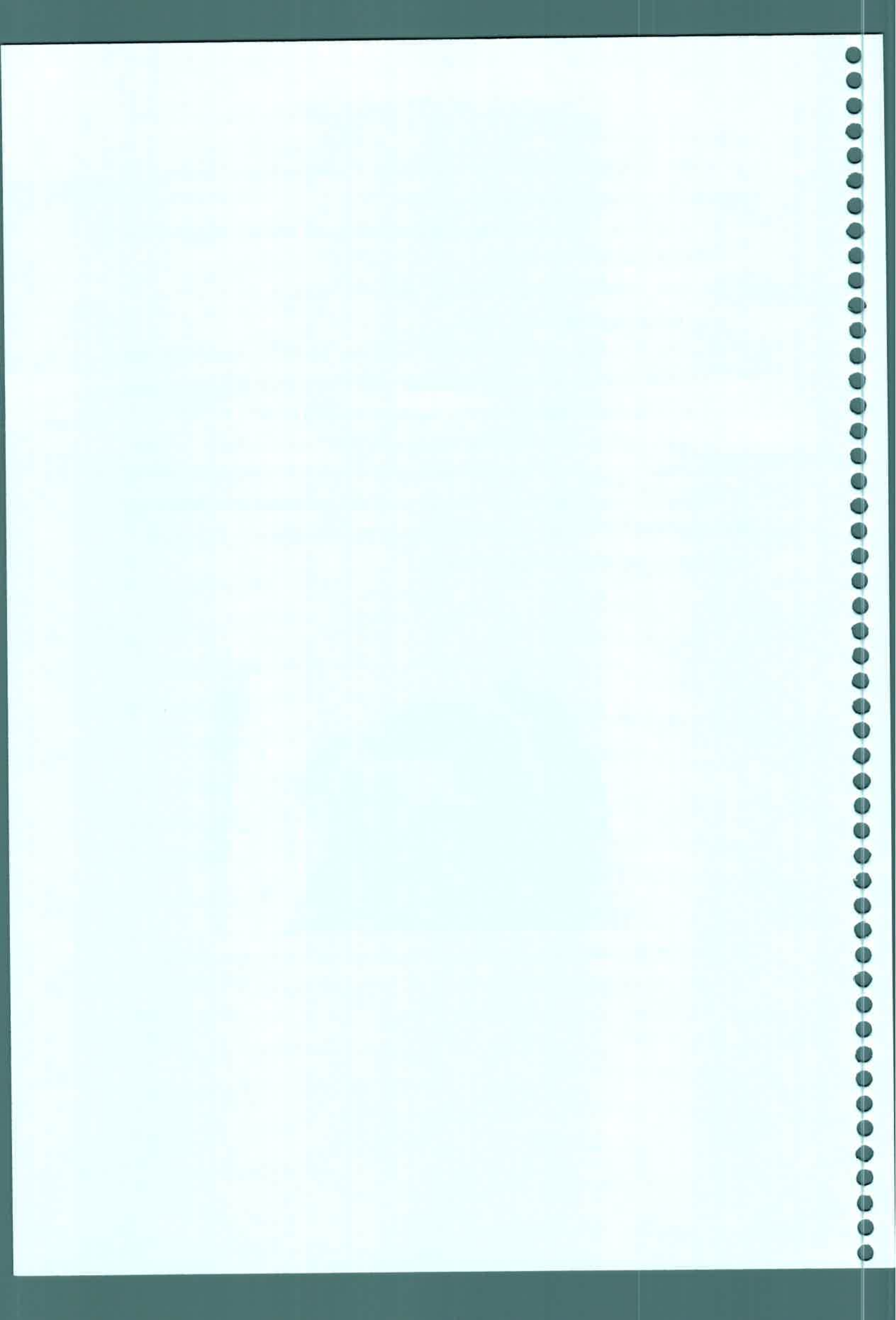


Fig. 38. Fotomicrografía del meristema apical del 1er estadio. cmc, células madre centrales; mm, meristema medular; mp, meristema periférico; pf, primordio foliar; t, túnica. La escala corresponde a 50 μm .



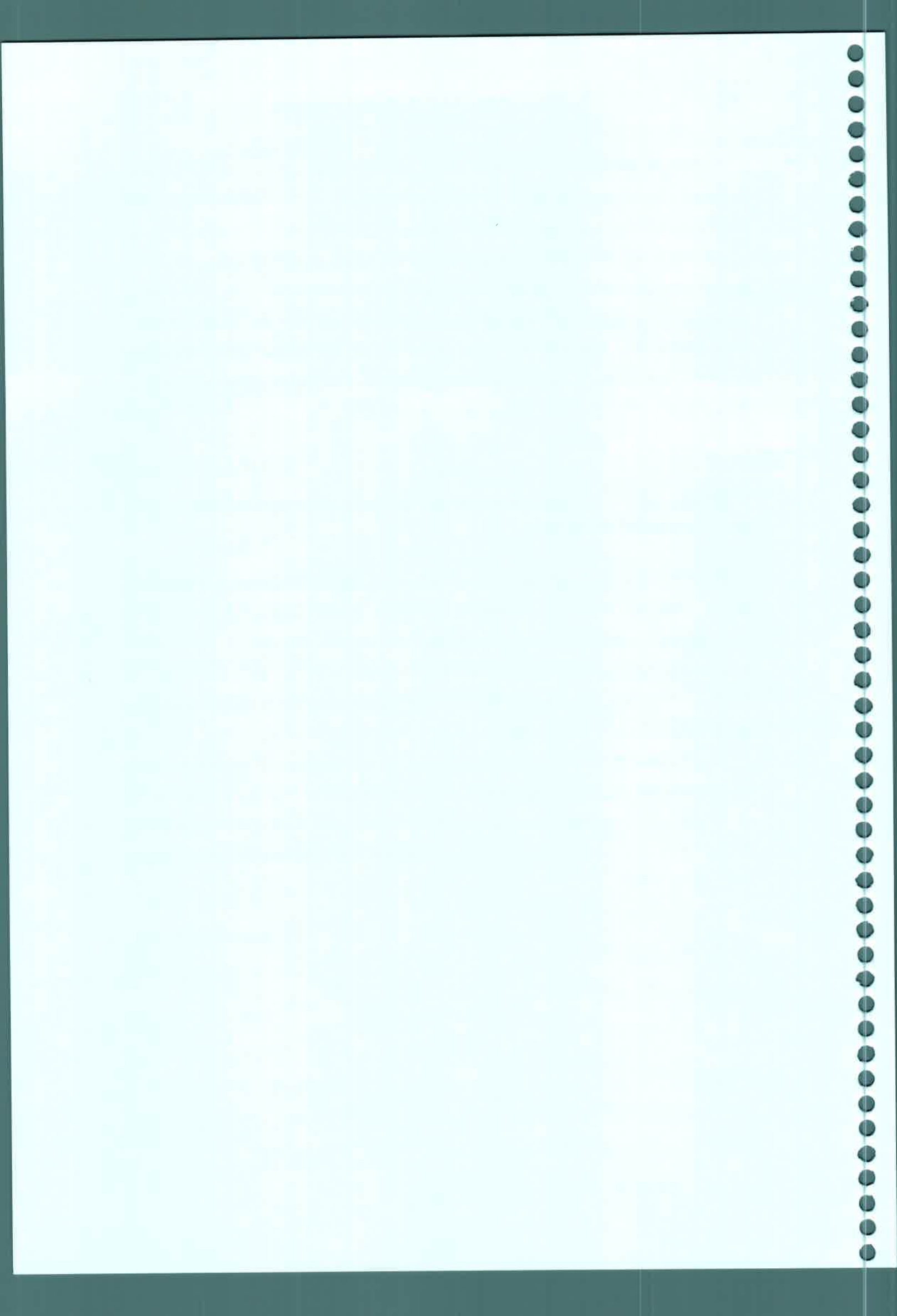
Las células madre centrales tienen mayor tamaño que las células de otras zonas y tienden a ser cúbicas (Fig. 41A), mientras que las células de la zona periférica y del meristema medular son más pequeñas y tabulares (Fig. 41C).

La célula meristemática se caracteriza por ser relativamente pequeña, con pared celular primaria de poco espesor, núcleo grande, numerosas vacuolas pequeñas y carece de inclusiones ergásticas tales como almidón; sus plástidos están presentes como proplástidos. Además, las células meristemáticas se disponen dentro del tejido en forma muy compacta, dejando muy pocos espacios intercelulares (Fig. 41A, 41C y 42A, 42C).

7. Efecto de JA exógeno sobre la morfología e histología del meristema apical-subapical del estolón

La morfología típica del ápice correspondiente al 1er estadio control se observa en la Fig. 39A, en la cual se diferencia la región apical y subapical del estolón conjuntamente con el "gancho" o curvatura del estolón. Además se visualiza la presencia de tejidos vasculares y primordios foliares. En la Fig. 39C se observa en detalle el meristema apical del 1er estadio control, constituido por la túnica compuesta por dos capas de células, y el cuerpo.

La aplicación de JA exógeno a estolones del 1er estadio causó un incremento en el ensanchamiento del meristema apical y subapical del estolón, el cese del crecimiento de los primordios foliares, observado mediante la reducción en el número y longitud de los primordios foliares, los cuales permanecieron como primordios rudimentarios (Fig. 39B y 39D).



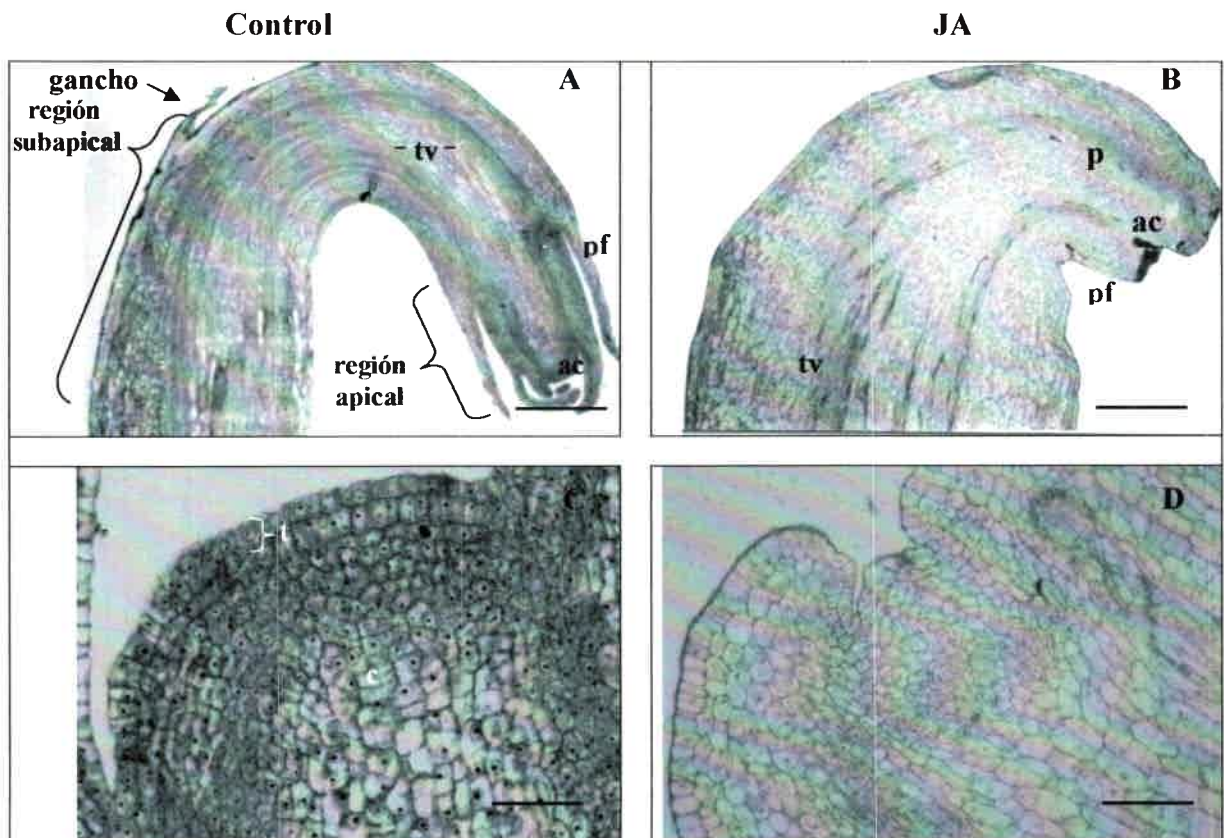
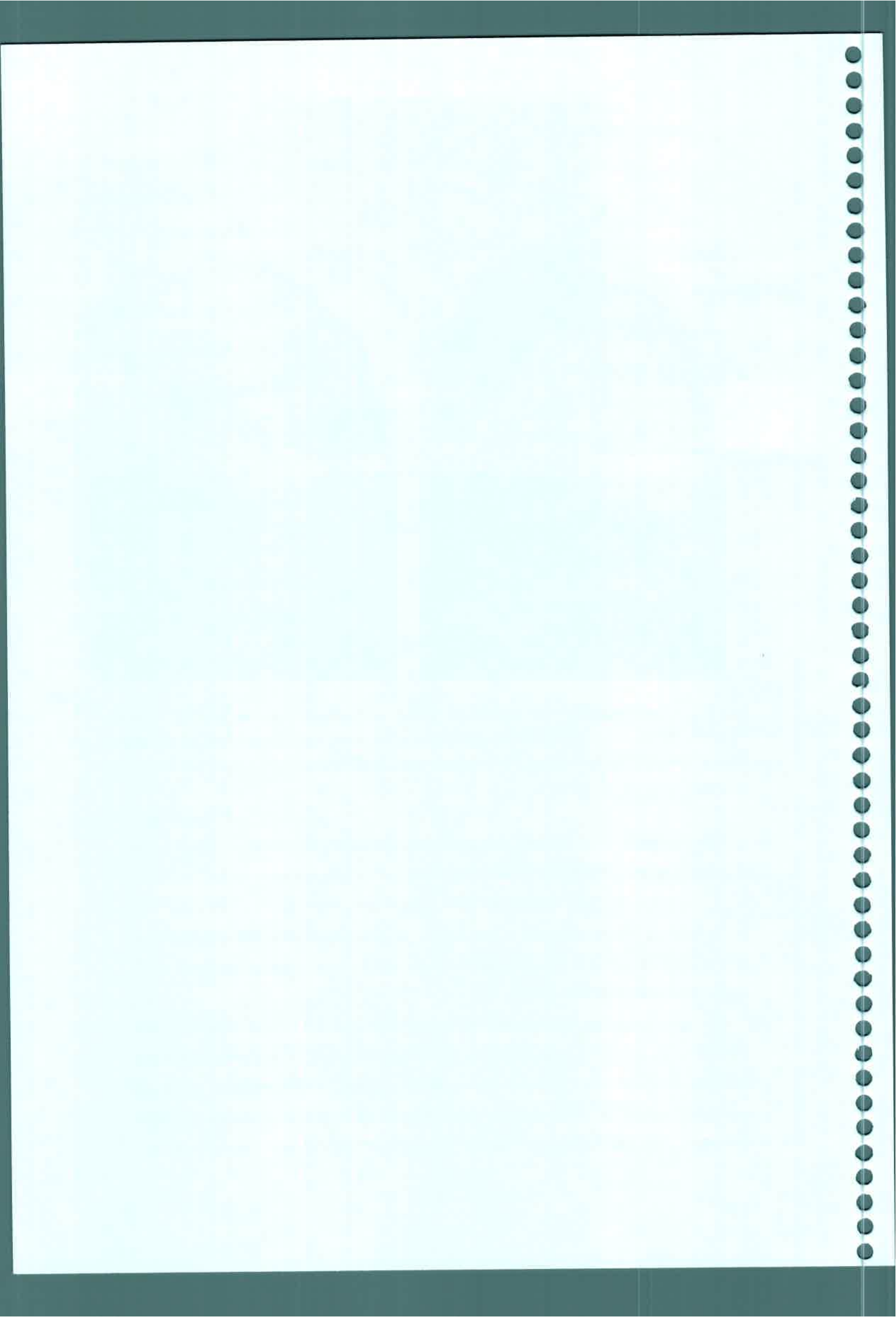


Fig. 39. Fotomicrografías del meristema apical perteneciente al 1er estadio. Control, izquierda; tratado con JA, derecha. ac, ápice caulinar; c, cuerpo; p, procambium; pf, primordio foliar; t, túnica; tv, tejido vascular. La escala corresponde a 250 μm para A y B; 25 μm para C; 50 μm para C.

Por otra parte, la morfología del meristema apical del 2do estadio control no se modificó respecto a la del 1er estadio (Fig. 40A y 40C); sin embargo, la aplicación de JA a estolones del 2do estadio produjo importantes cambios morfológicos, muy similares a los observados para el 1er estadio; la ausencia de primordios foliares fue muy notoria así como el estrechamiento de la región apical y ensanchamiento de la región subapical (Fig. 40B y 40D).

En adición, en el 2do estadio el tratamiento con JA indujo una temprana diferenciación de tejidos vasculares (Fig. 41) puesto que desde las regiones próximas a la túnica se observaron elementos protoxilemáticos, tales como elementos traqueales con pared celular primaria delgada sobre la cual se depositaron anillos de pared secundaria. De esta manera, las bandas procambiales teñidas más intensamente que



tejidos adyacentes en el 1er estadio (Fig. 39B) se diferenciaron en elementos xilemáticos en el 2do estadio (Fig. 40D y 41).

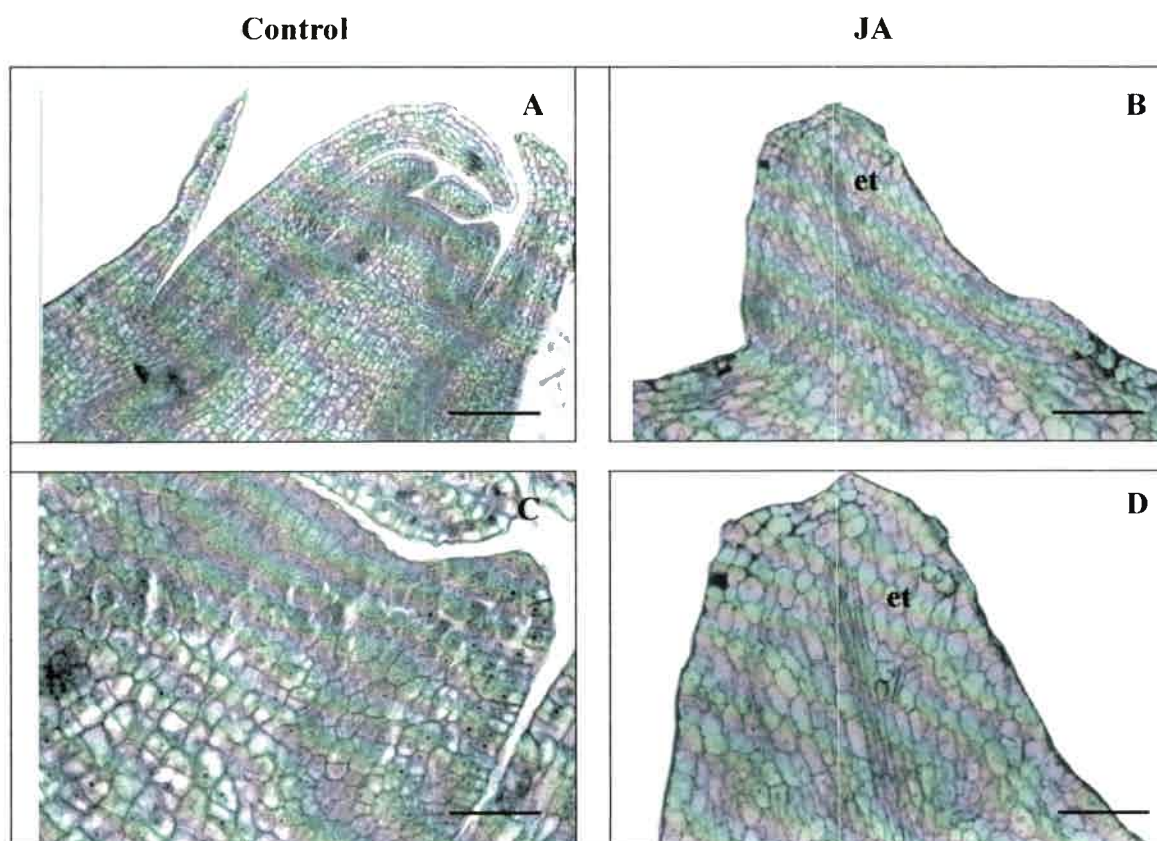
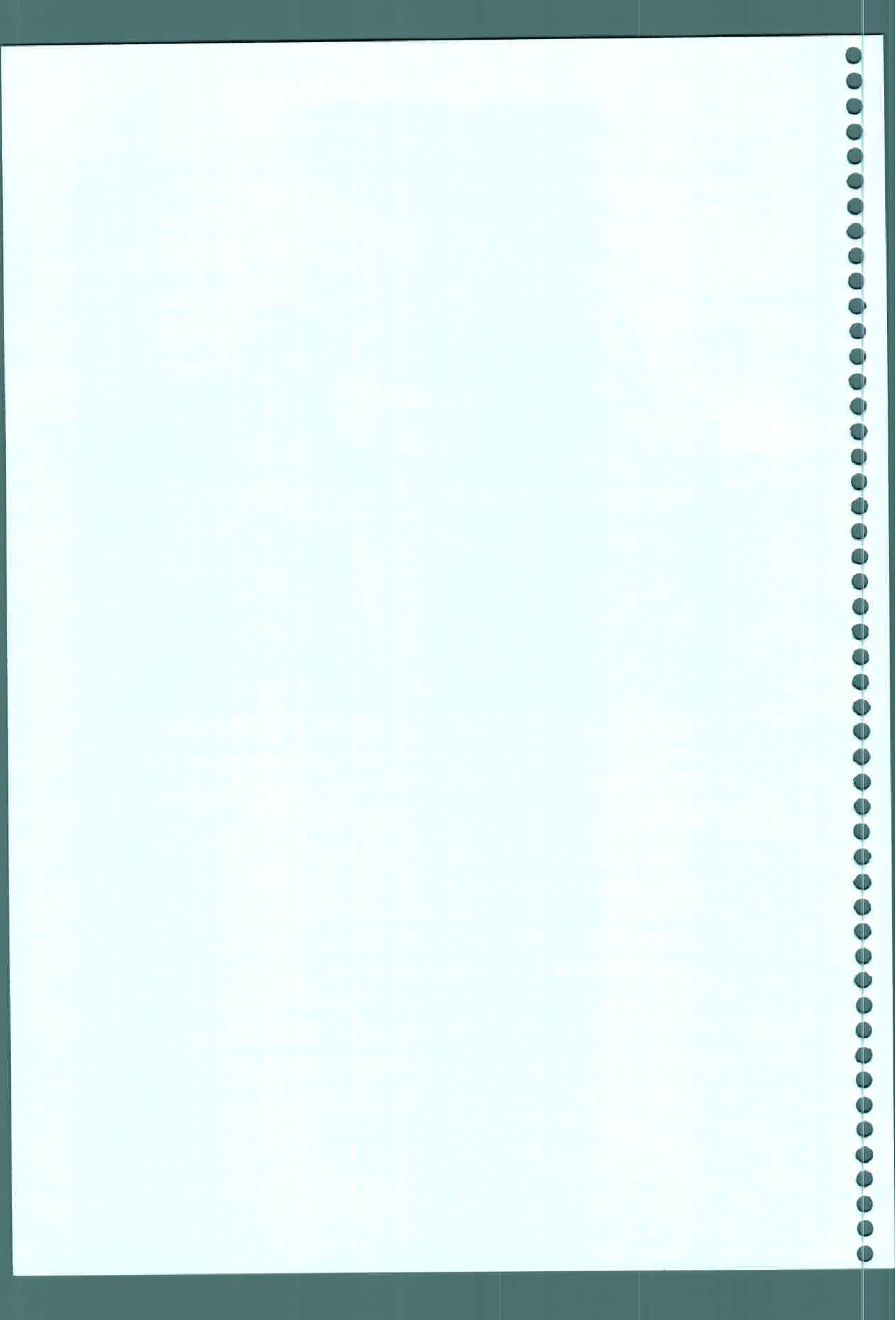


Fig. 40. Efecto de la aplicación exógena de JA sobre la morfología del meristema apical del 2do estadio. Control, izquierda; tratado con JA, derecha. et, elemento traqueal. La escala corresponde a 50 μm para A; 100 μm para B, 25 μm para C y D.

8. Efecto de JA exógeno a nivel celular

A nivel celular, el tratamiento con JA produjo incremento en el tamaño celular en ambos estadios analizados (Fig. 41 y 42). Dicha proporción fue la misma para las dos zonas consideradas. En ambos estadios, el incremento del tamaño celular fue más evidente en la zona II. Por efecto de JA las células se presentaron más globosas, perdiendo la forma bien delimitada característica de las células controles.



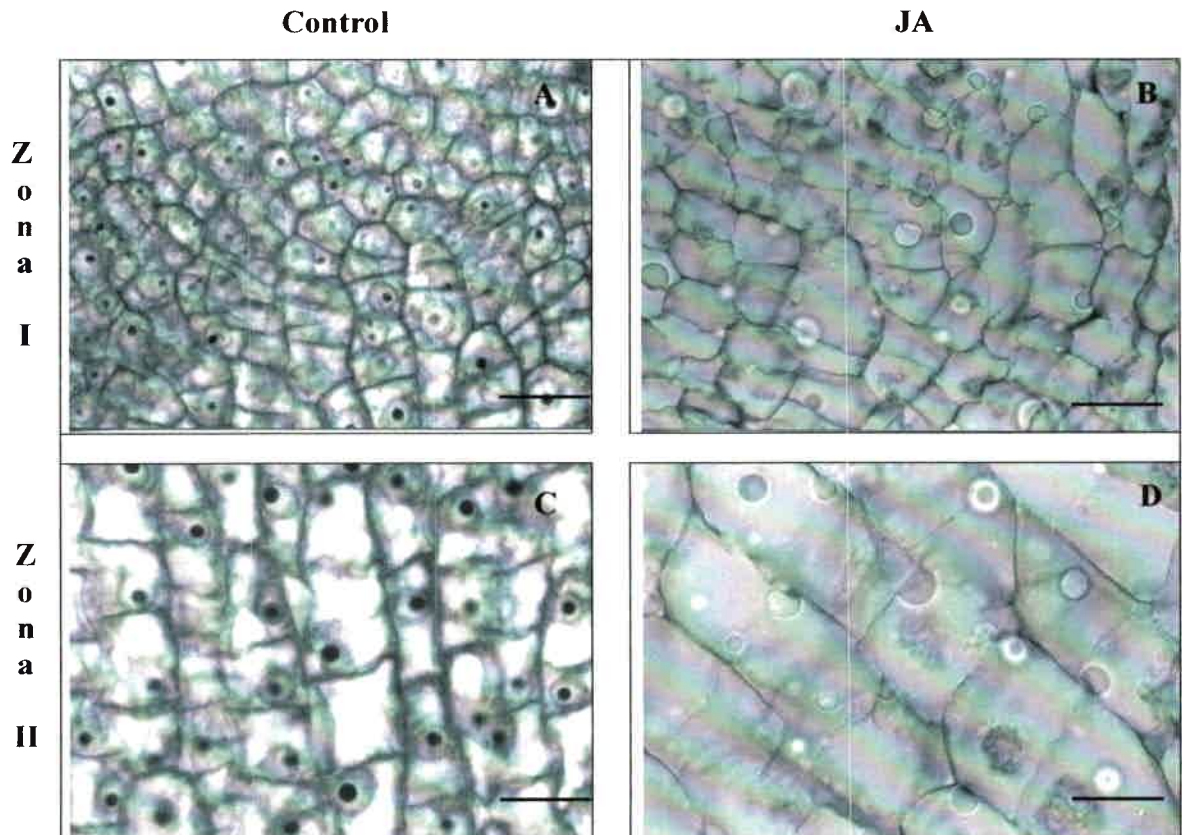
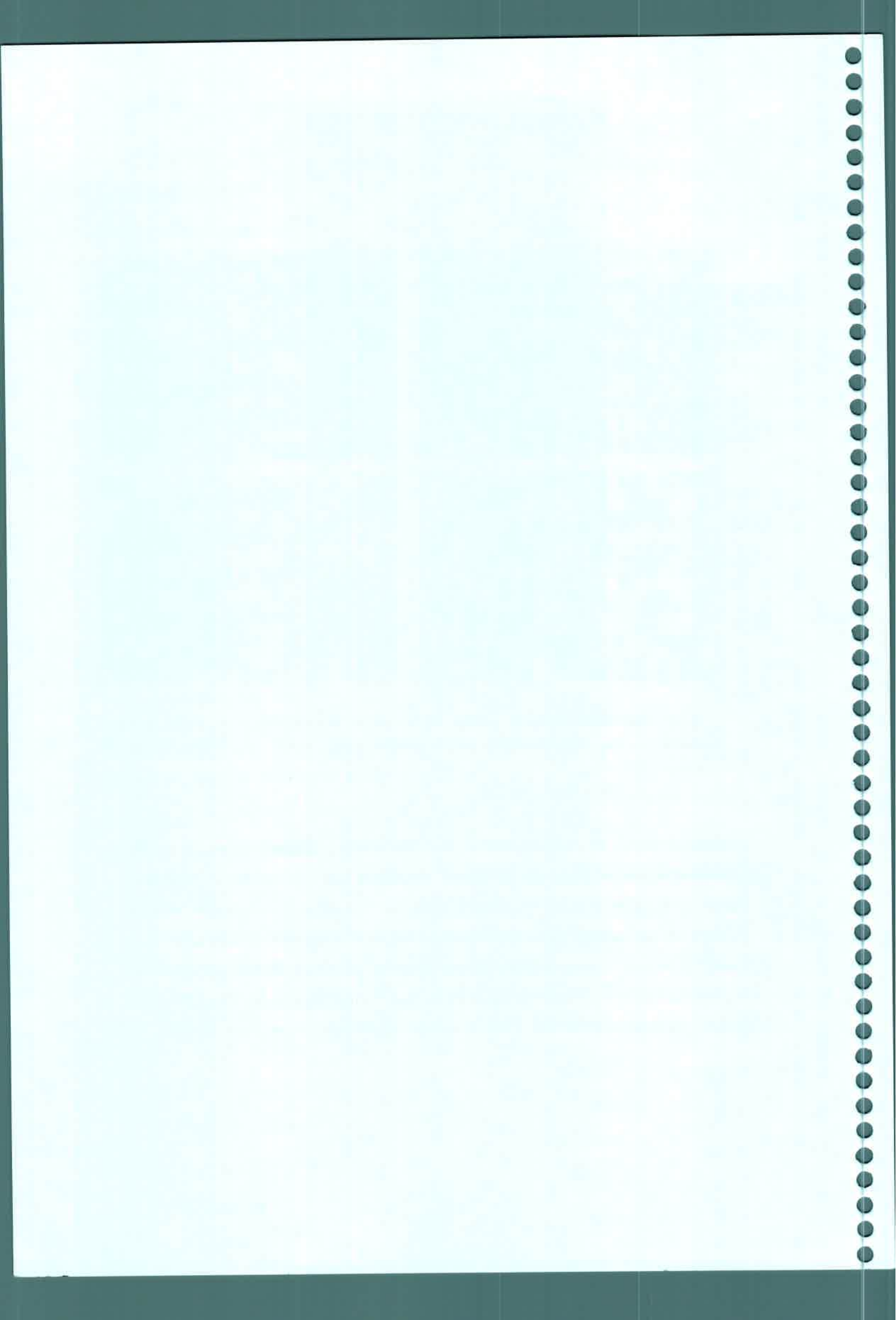


Fig. 41. Fotomicrografías de células de dos zonas meristemáticas de ápices del 1er estadio. Control, izquierda; tratada con JA, derecha. Zona I, arriba; zona II, abajo. La escala corresponde a 10 μm .

Como se mencionó con anterioridad, en el 2do estadio el tratamiento con JA indujo la diferenciación temprana de los tejidos vasculares que constituirán el tubérculo maduro (Fig. 42B y 42D). Asociados a dichos elementos se encuentran células parenquimáticas especializadas fundamentalmente en la acumulación de almidón. Con relación a esto, se observó la formación anticipada de granos de almidón por efecto de JA, encontrándose los mismos al inicio de la zona II en el 1er estadio (Fig. 41D) y en la zona I en el 2do estadio (Fig. 42B), lo cual no ocurre en los respectivos controles.



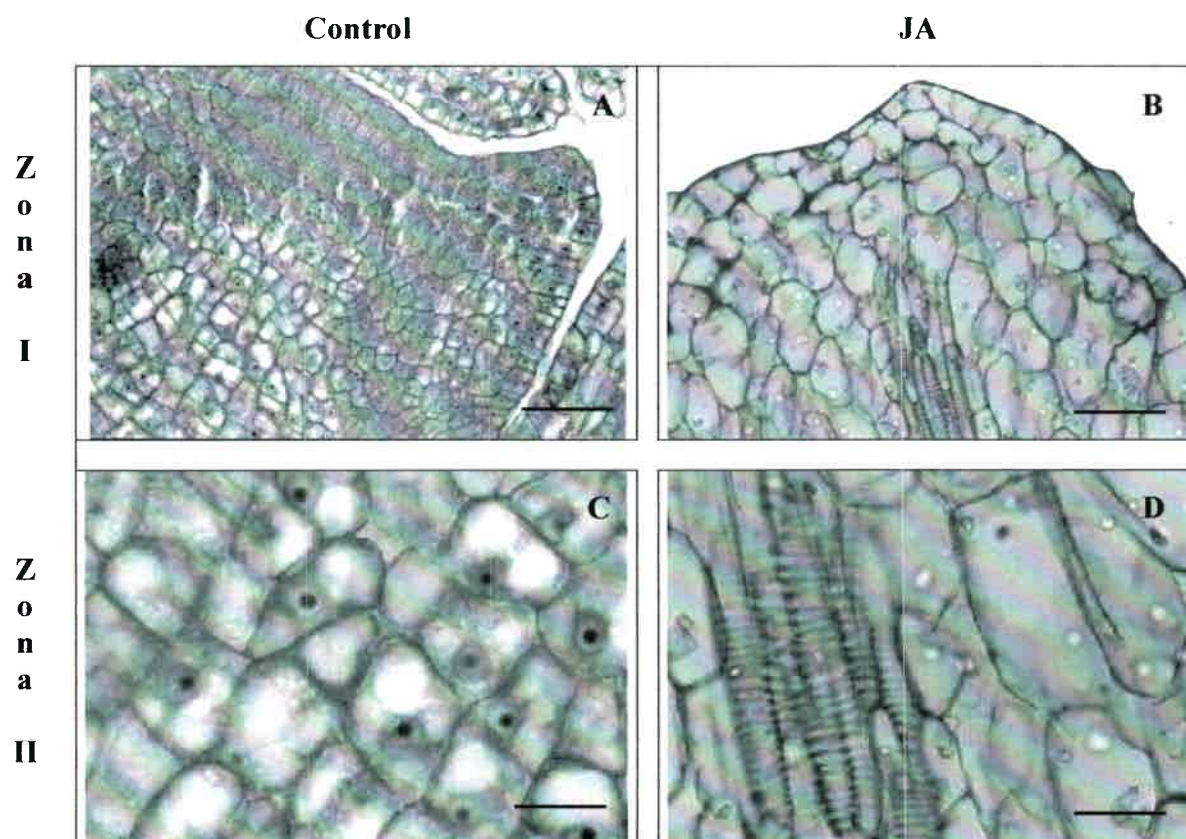
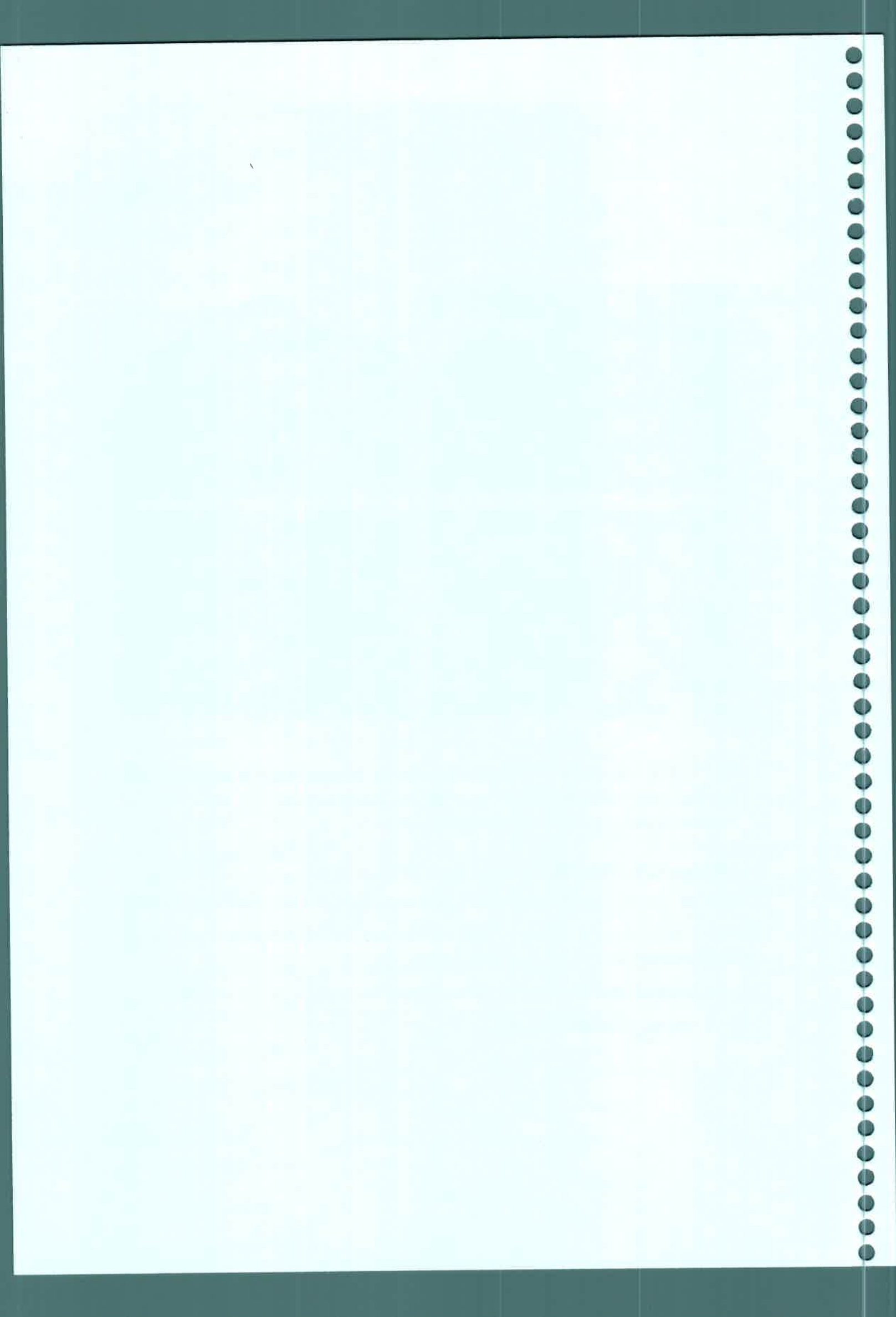


Fig. 42. Fotomicrografías de células de dos zonas meristemáticas de ápices del 2do estadio. Control, izquierda; tratada con JA, derecha. Zona I, arriba; zona II, abajo. La escala corresponde a 25 μm para A y B; 10 μm para C y D.

Mediciones del área celular revelaron que JA causó un incremento en la expansión celular de 4 veces para el 1er estadio y de 6 veces para el 2do estadio (Fig. 43) en ambas zonas analizadas. Además, el área celular fue mayor en la zona II que en la zona I, tanto para el 1er como para el 2do estadio (Fig. 43).

En el 2do estadio, JA causó un incremento del área celular de casi el doble en la zona II respecto a la zona I (Fig. 43).



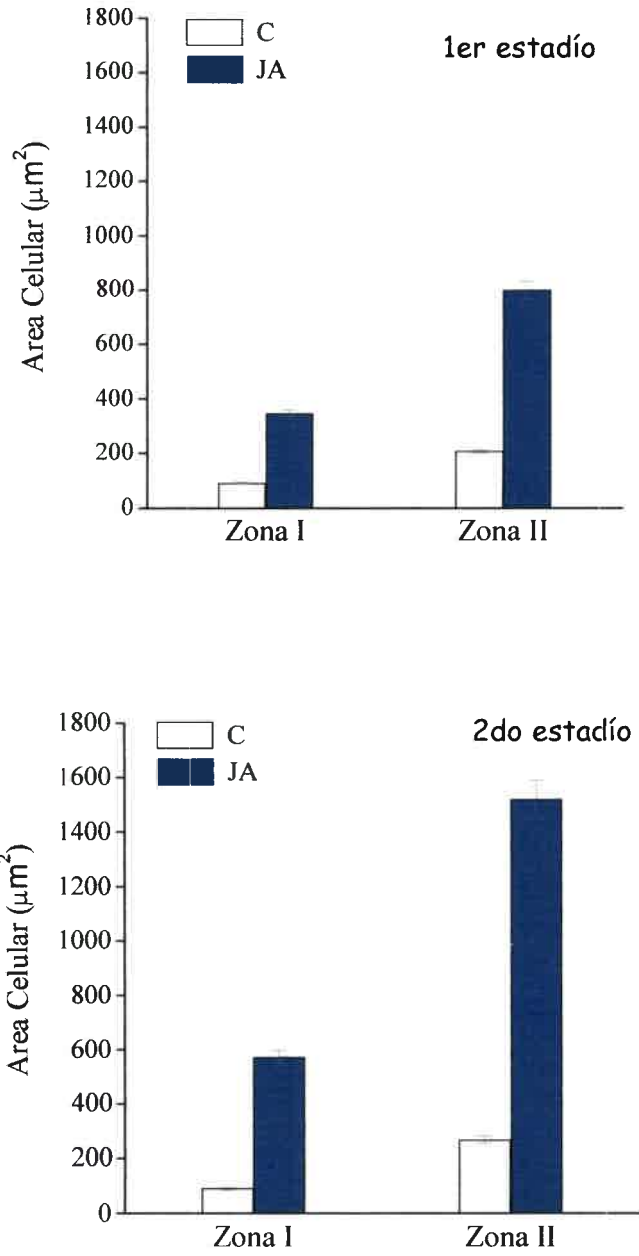
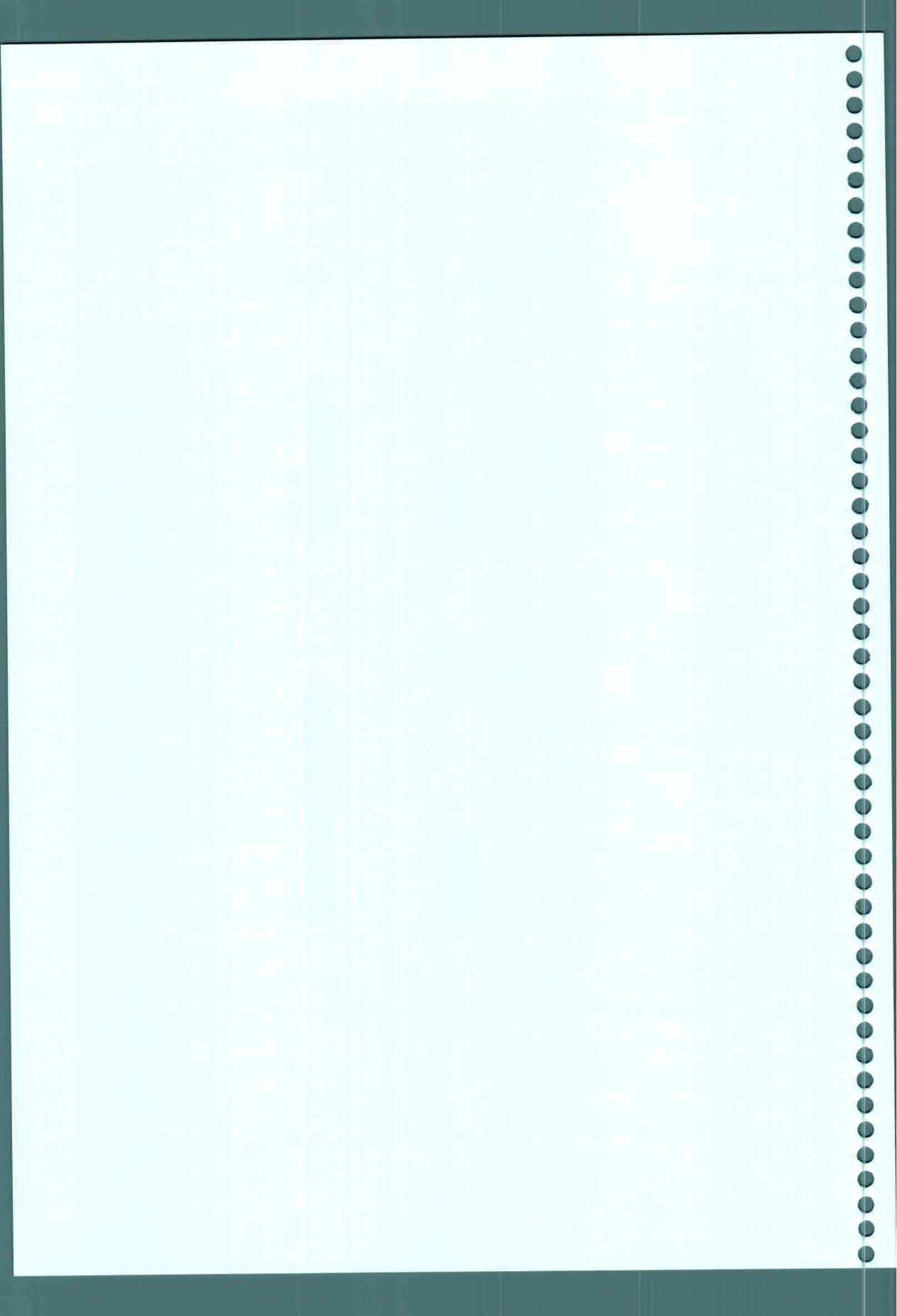


Fig. 43. Efecto de JA sobre el área celular del 1er y 2do estadio. n=5 ± SE.



9. Visualización de granos de almidón

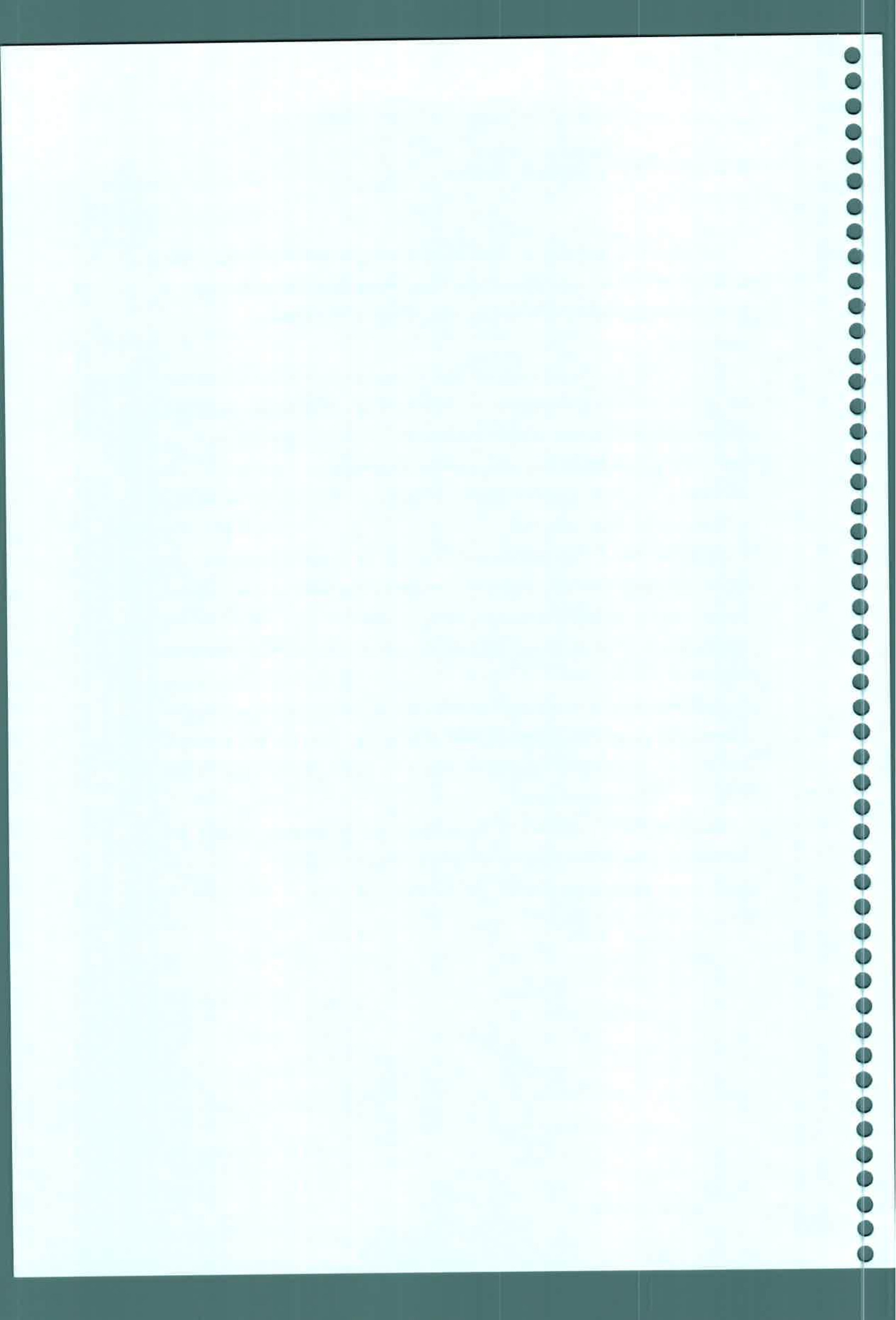
Los estolones (1er estadio) y tubérculos (4to estadio) presentaron como tejido fundamental parénquima de reserva, que almacena almidón. Este polisacárido se localizó en el parénquima de la corteza, médula, y en el parénquima de los tejidos conductores.

En el 1er estadio los granos de almidón se observaron en la región subapical del estolón, a la altura de la curvatura del ápice y fueron exclusivos de células parenquimáticas adyacentes al tejido vascular (Fig. 44A). Mientras que en el 4to estadio los granos de almidón comenzaron a localizarse en la parte apical del tubérculo en desarrollo, dispersos en todas las células del parénquima reservante y próximos a la epidermis (Fig. 44B).

En la Fig. 44C y 44D se observan los granos de almidón dispersos en las células parenquimáticas del estolón (1er estadio) y del tubérculo (4to estadio) respectivamente, notándose un incremento en el tamaño de los mismos en el 4to estadio, lo cual coincide con el aumento del tamaño celular en el estadio de tuberización más avanzado.

La disposición general del almidón en las células parenquimáticas adyacentes al tejido vascular del 4to estadio se observa en la Fig. 45A. En detalle pueden observarse los elementos del sistema vascular y los granos de almidón en la Fig. 45B, 45C y 45D respectivamente.

Asimismo, pudo visualizarse la morfología típica del grano de almidón del tubérculo de papa, el cual presenta una forma elipsoide, es simple y excéntrico; clasificación realizada en función del número y la posición del centro de formación o *hilo* (Fig. 45D y 46).



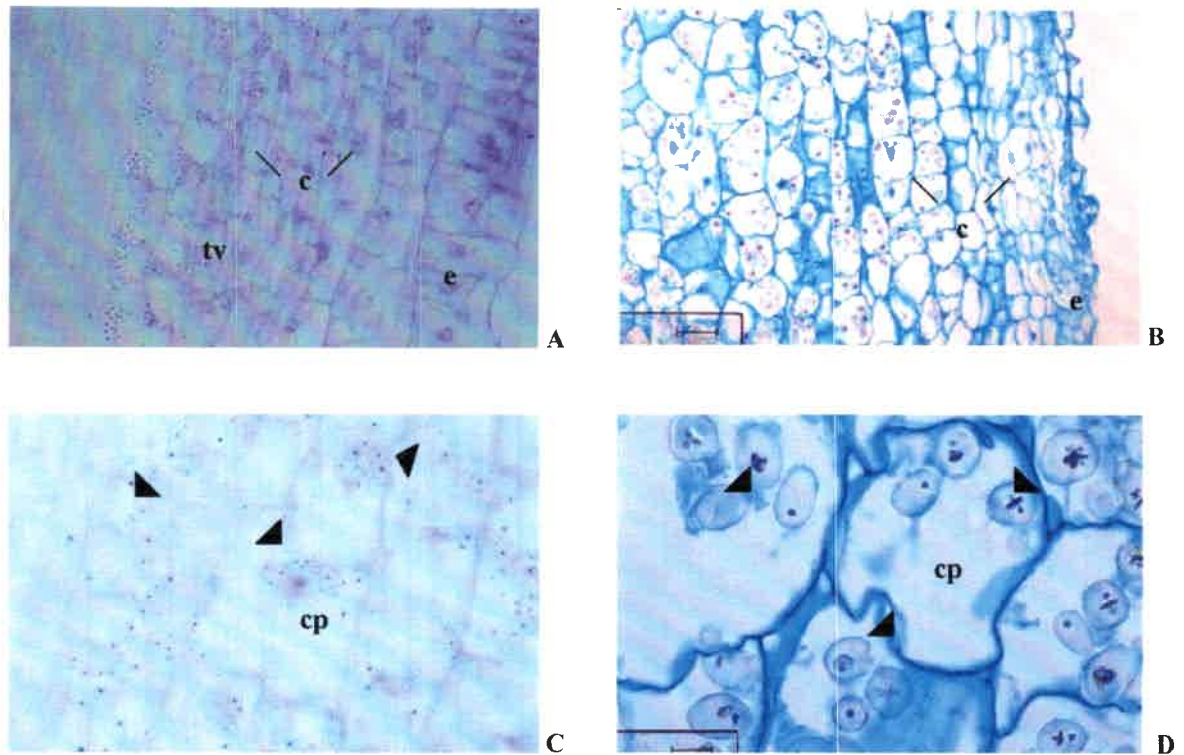
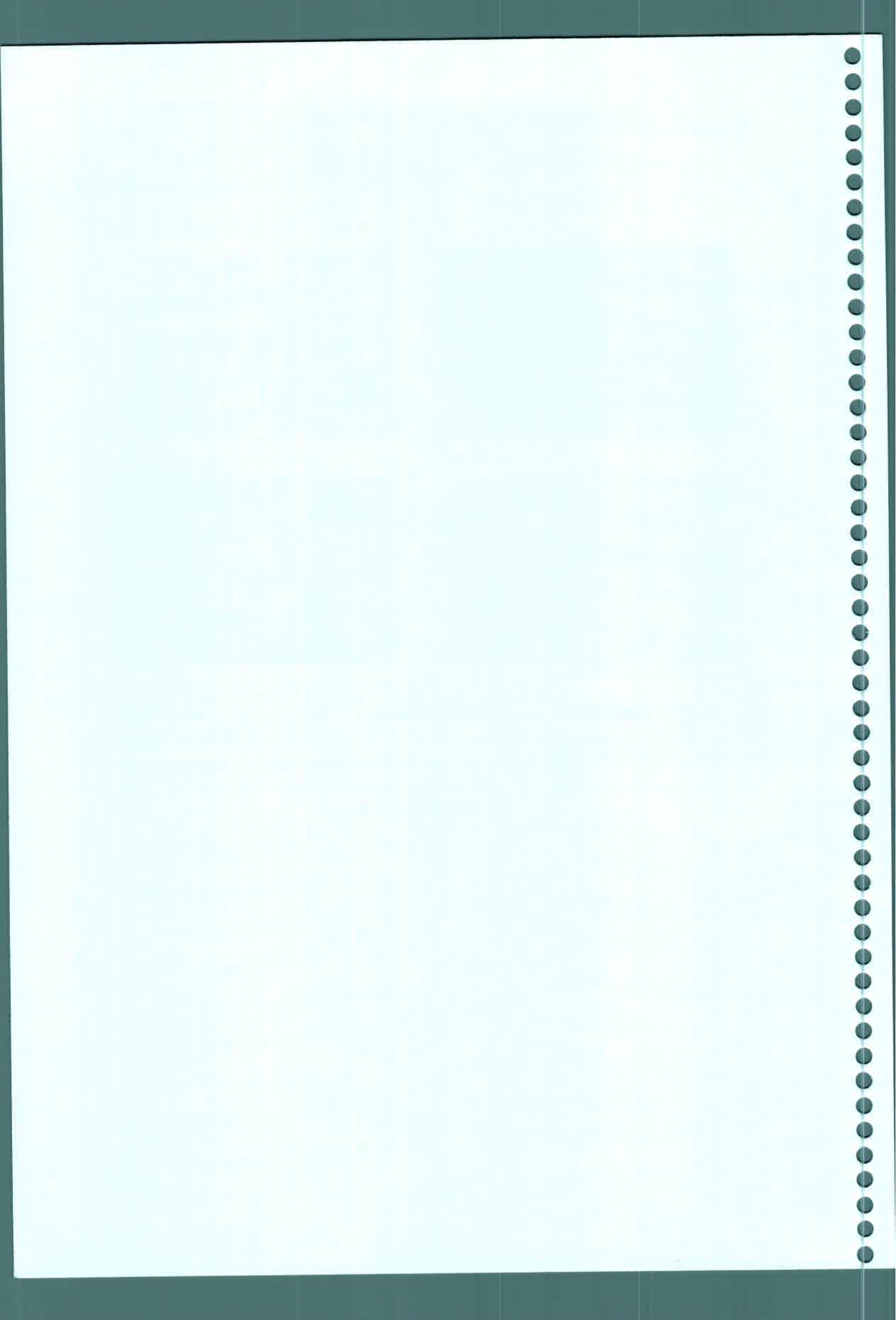


Fig. 44. Fotomicrografías de secciones longitudinales del 1er (izquierda) y 4to (derecha) estadio. A, B. Vista general de disposición de tejidos. C, D. Células parenquimáticas con granos de almidón. Prueba de PAS, Fig. A, C. Triple coloración, Fig. B, D. c, corteza; cp, célula parenquimática; e, epidermis; tv, tejido vascular; cabeza de flecha, almidón. La escala corresponde a 25 μm para A, 50 μm para B, 10 μm para C, D.



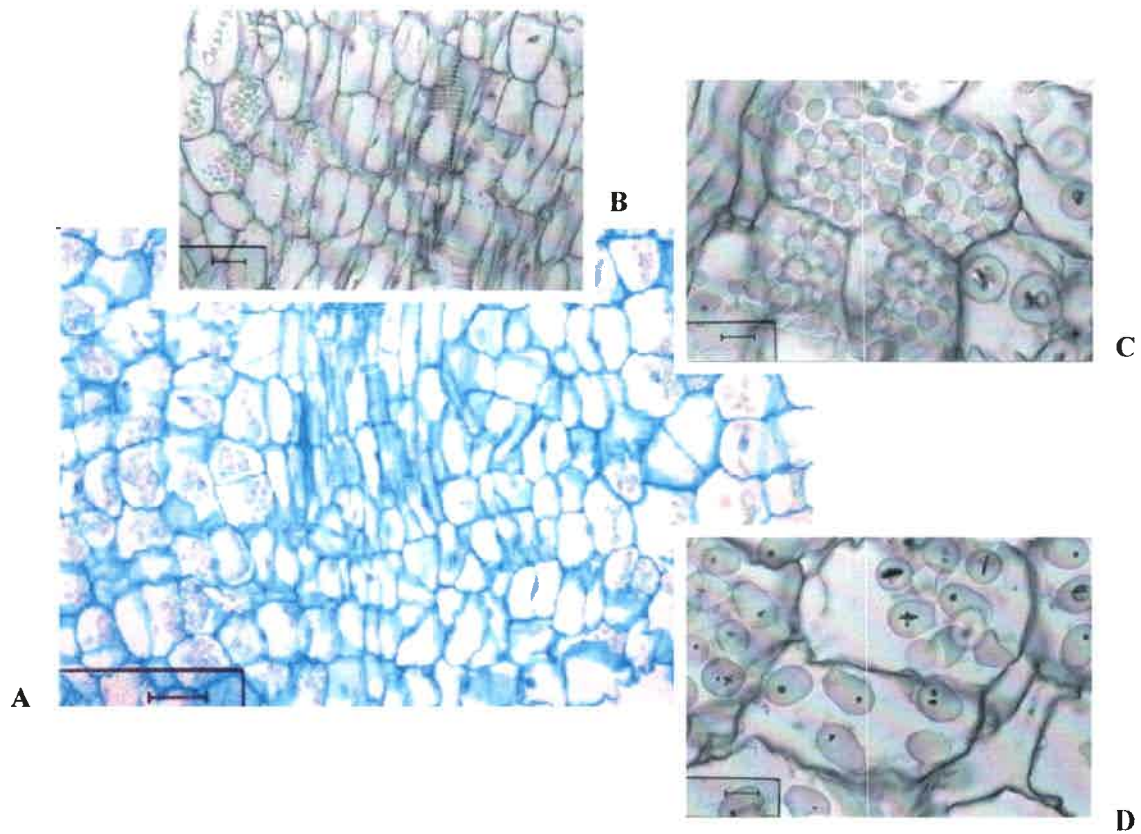


Fig. 45. Fotomicrografías del parénquima reservante del 4to estadio. Triple coloración. **A**, Disposición general de los granos de almidón. **B**, Granos de almidón en células parenquimáticas adyacentes al tejido vascular. **C**, Contenido de almidón en células de reserva. **D**, Granos de almidón excéntricos. La escala corresponde a 50 μm para A , B; 25 μm para C y 10 μm para D.

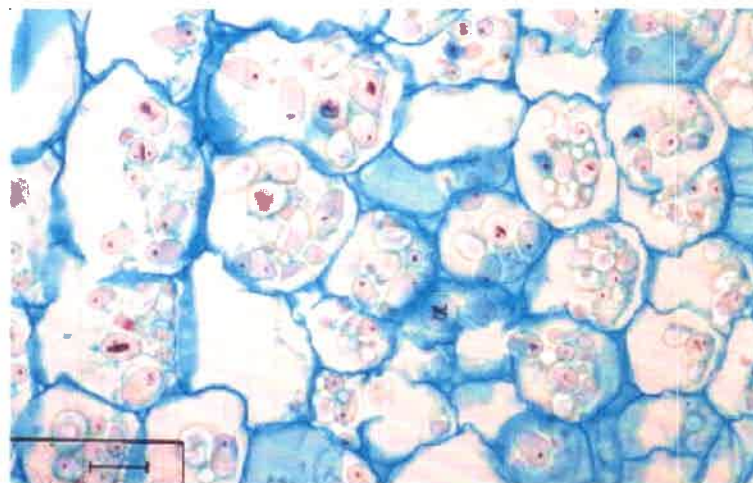
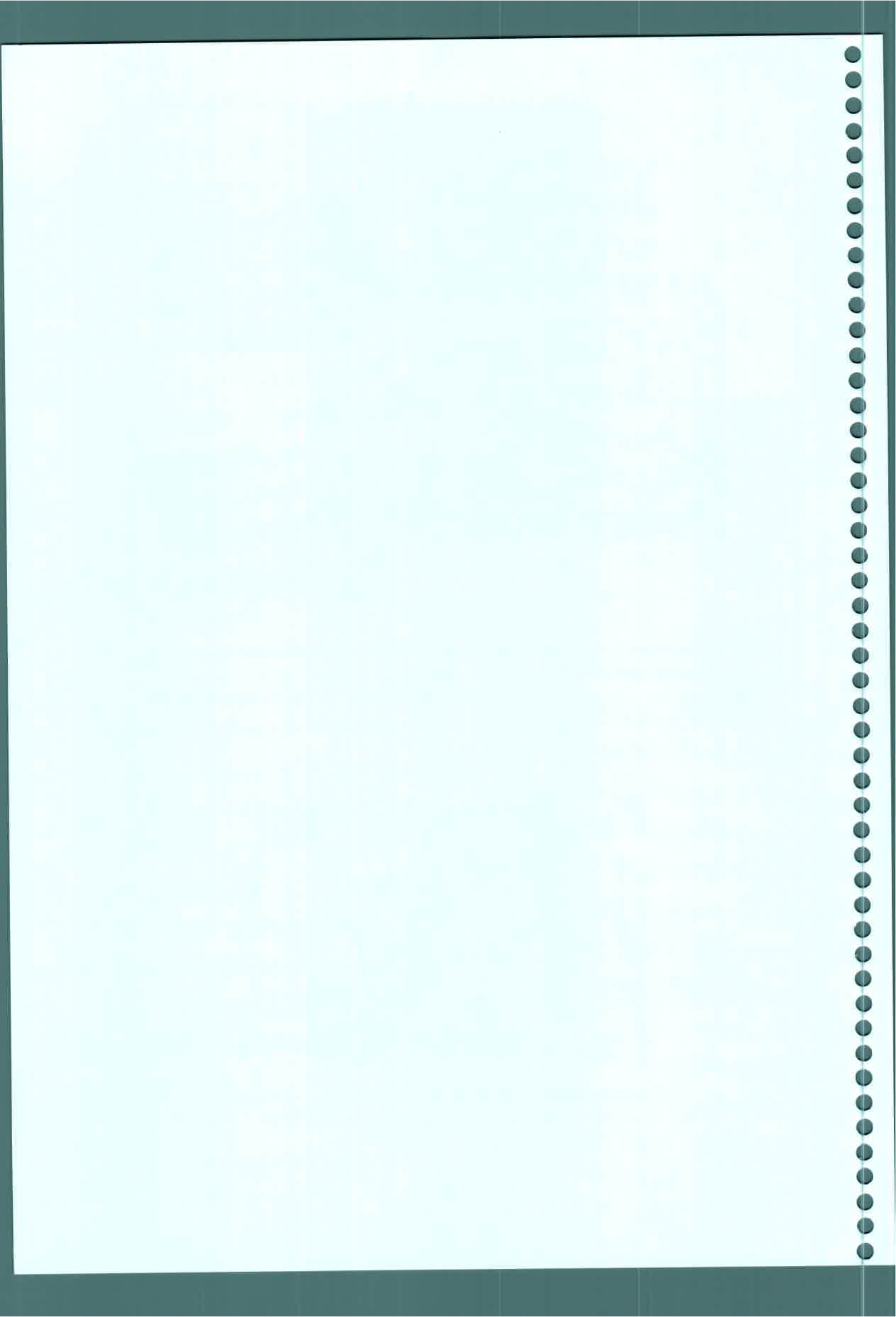


Fig. 46. Detalle de granos de almidón en el parénquima fundamental del 4to estadio. Triple coloración. La escala corresponde a 25 μm .



DISCUSIÓN

DISCUSSION

DISCUSIÓN

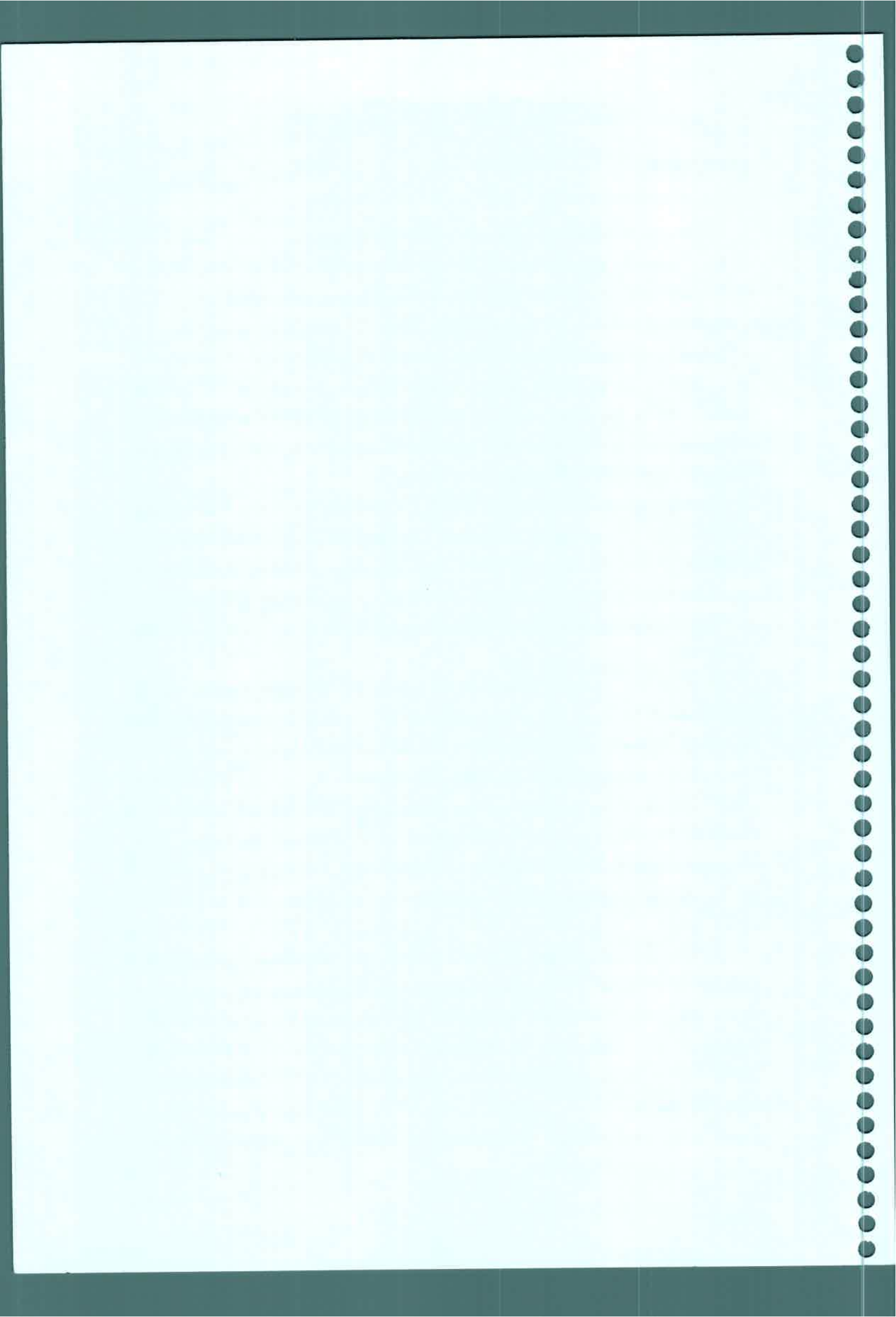
Cambios en la morfología producidos en las primeras etapas de la transición del estolón a tubérculo van acompañados de profundas modificaciones en la fisiología y en el metabolismo, conduciendo a la formación y crecimiento del tubérculo.

Numerosos estudios se han publicado sobre los efectos de reguladores del crecimiento en la tuberización de la planta de papa; sin embargo, hasta el momento no se ha identificado un "factor único e inequívoco" que desencadene este proceso (Jackson, 1999). De todos modos, la intervención de las señales hormonales son eventos comunes de los procesos morfogénéticos, y necesitan de vías de transducción y de tejidos receptivos en donde ejercer su acción.

Estudios realizados por Koda y col. (1991; 1992) y Koda (1997) permitieron inferir la participación de los JAs en el crecimiento de la planta de papa y en la formación de tubérculos. Posteriormente, JA y MeJA se identificaron en tejidos de estolones y tubérculos recién formados (Castro y col., 1999; 2000) y la variación del contenido de JA y MeJA durante la ontogenia de la planta de papa fue luego informada por Abdala y col. (2002).

En el presente trabajo se aborda el estudio del complejo proceso de la transformación de un estolón a tubérculo. Para ello, durante la ontogenia de estos órganos se analizó la identidad química y el nivel endógeno de JAs, el contenido de fósforo fosfolipídico, el patrón de lípidos estructurales y de aquellos considerados señales. Además se analizaron los cambios morfológicos e histológicos producidos por efecto de JA exógeno, y las modificaciones en el contenido de fósforo total fosfolipídico y de fosfolípidos causado por el tratamiento hormonal en los primeros estadios de tuberización; por último se establecieron correlaciones entre los procesos mencionados.

Los derivados hidroxilados, 11-OH-JA y 12-OH-JA, se aislaron y cuantificaron por primera vez durante la transición de estolones a tubérculos (Cenzano y col., 2004; en revisión final). Previamente, en hojas de *Solanum tuberosum* L. un compuesto denominado ácido tuberónico fue identificado como 12-OH-JA (Yoshihara y col., 1989), y en hojas de *Solanum demissum* L se detectó 11-OH-JA, como sustancia nativa de plantas superiores (Helder y col., 1993). Posteriormente, se informó la presencia del éster metílico del glucósido de 12-OH-JA en hojas de *Solanum*



tuberosum (Simko y col., 1996). Ambos derivados hidroxilados habían sido aislados previamente a partir del hongo *Botryodiplodia theobromae* por Miersch y col. (1991).

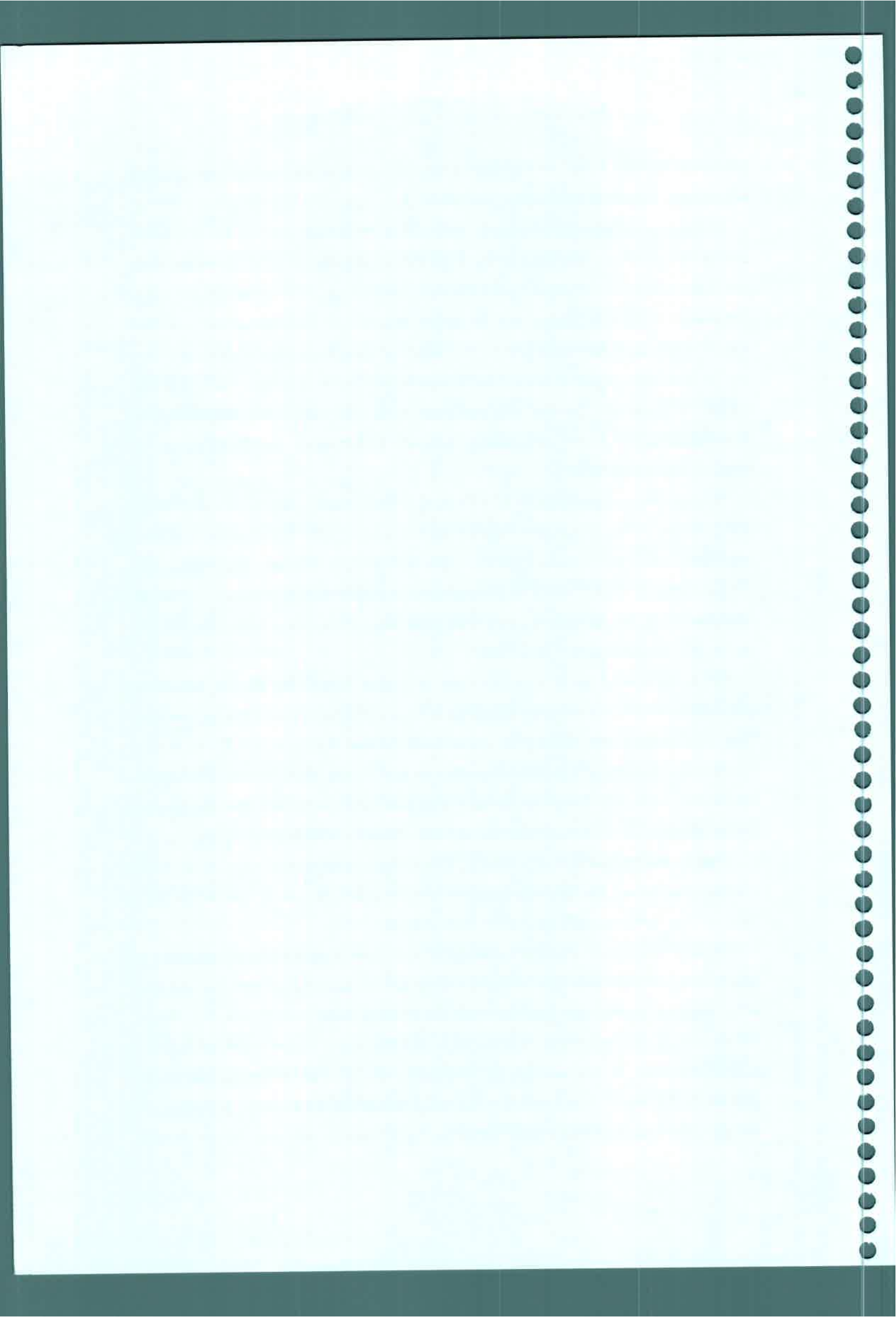
Nuestros resultados han permitido confirmar que estolones y tubérculos contienen ambos hidroxilados y que sus niveles se modifican durante los estadios ontogénicos analizados. El nivel constante y elevado de JA y 12-OH-JA en estolones así como decreciente en ápices, sugiere que los ápices podrían ser los sitios donde ocurriría mayoritariamente la hidroxilación, o bien sitios de utilización o metabolismo; mientras que los estolones actuarían como vías de suministro de JAs a la región apical donde ocurre la expansión celular que conduce a la formación del tubérculo. En consecuencia, JA y los hidroxilados estarían directamente involucrados en la formación de los tubérculos.

Por otra parte, el aumento de 11-OH-JA y la concordante disminución de 12-OH-JA en ápices, podría indicar una vía de conversión de 12-OH-JA a 11-OH-JA, o bien una hidroxilación preferencial en el C-11 respecto al C-12. Estudios metabólicos con [^{14}C](±)-JA y [^{14}C]-9,10-dihidro-JA incorporados a plántulas de cebada de 6 días de edad mostraron que en ambos casos tuvo lugar una mayor hidroxilación en el C-11 que en el C-12 (Sembdner y col., 1990).

En la actualidad poco se conoce de la acción fisiológica de los derivados hidroxilados de JA; sin embargo la presencia de 12-OH-JA fue informada en flores de tomate (Miersch y col., 1998) y de *Arabidopsis thaliana* (Gidda y col., 2003), lo que indica que la distribución de este compuesto no se restringe sólo a plantas que forman tubérculos, sugiriendo funciones en otros procesos fisiológicos; por ejemplo, niveles disminuidos de 12-OH-JA retrasaron el inicio de floración (Gidda y col., 2003).

Otro de los derivados de JA, Me-JA, mostró bajos niveles endógenos durante los estadios analizados, lo cual sería consecuencia de la volatilidad de este compuesto, hecho comprobado en otros tejidos por Boland y col. (1995).

La identificación de diferentes miembros de la familia de los JAs en estolones y tubérculos, así como un activo metabolismo de los mismos en estolones, sugiere que estos órganos podrían ser lugares donde ocurriría síntesis y conversión de estos compuestos. Esta hipótesis se sustenta en lo informado por Kolomiets y col. (2001) quienes encontraron acumulación de transcriptos LOX₁, enzima involucrada en la síntesis de JA, en la región apical y subapical del tubérculo al inicio y durante el proceso de tuberización, específicamente en el tejido vascular de la región



perimedular, sitio de mayor crecimiento celular. Además, mutantes con expresión disminuída de LOX_1 mostraron una menor actividad de esta enzima con la consiguiente reducción del número y tamaño de tubérculos. Los resultados de estos autores señalan la participación de algunos metabolitos derivados de LOX en la inducción y agrandamiento del tubérculo.

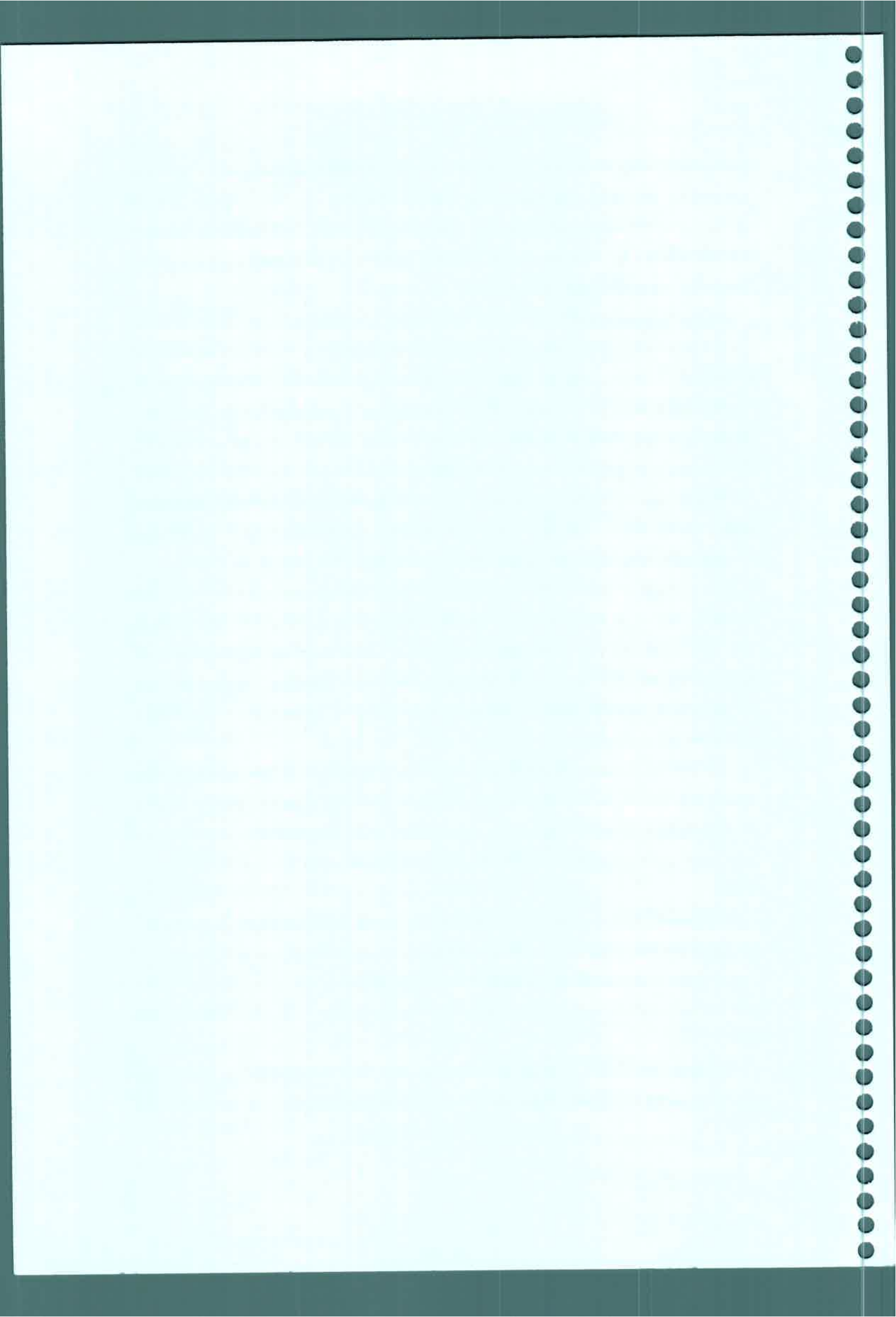
Es un hecho conocido que el crecimiento del tubérculo es acompañado por una masiva deposición de almidón en las células parenquimáticas y nuestras observaciones corroboraron la presencia de este polisacárido en estolones del 1er estadio con un incremento notable en el 4to estadio. Conjuntamente a la deposición de almidón se observó a lo largo de la ontogenia una disminución del contenido de fósforo total y del fósforo presente en cada especie fosfolípídica, sugiriendo un suministro de fósforo hacia otras vías metabólicas, por ej. la formación de intermediarios fosforilados tales como, Glucosa-6-P, Glucosa-1-P, UDP-Glucosa, UTP, PP_i , ATP y enzimas involucradas en la biosíntesis de almidón (Wang y col., 1998; Farré y col., 2001).

Un elevado nivel de UDP-G en amiloplasto (57%) en comparación con el del citosol (42%) se encontró en células de tubérculo de papa (Farré y col., 2001), por lo que este intermediario fosforilado podría estar involucrado en la biosíntesis de sulfolípidos, en lugar de ser sustrato para la síntesis de almidón. Además, hexosas fosfato y ATP (sustratos para la biosíntesis de almidón) se encuentran en importantes cantidades en amiloplasto.

Además, la disminución del fósforo total con el avance de la tuberización podría indicar una estrategia de la planta para minimizar el fosfato requerido para la síntesis de fosfolípidos de membrana, a fin de sintetizar otros glicerolípidos cloroplásticos tales como galactolípidos (MGDG, DGDG) y sulfolípidos (SQDG) (Somerville y col., 2000).

Los galactolípidos como MGDG podrían ser fuente de JAs. MGDG es producido mediante dos vías metabólicas: una plastídica, el cual presenta 16:3 en posición *sn-2*, y otra retículo endoplasmática, rica en 18:3 en posición *sn-1*. Por lo tanto, es probable que ambos reservorios de MGDG contribuyan a la biosíntesis de JAs (Weber y col. 1997).

Teniendo en cuenta que se ha propuesto que MGDG cloroplástico puede ser precursor de OPDA y en consecuencia de JA, se podría especular que las formas de



JAs identificadas en estolones podrían provenir de una vía de síntesis que ocurriría en los amiloplastos de estos órganos y derivar de MGDG contenido en estas organelas.

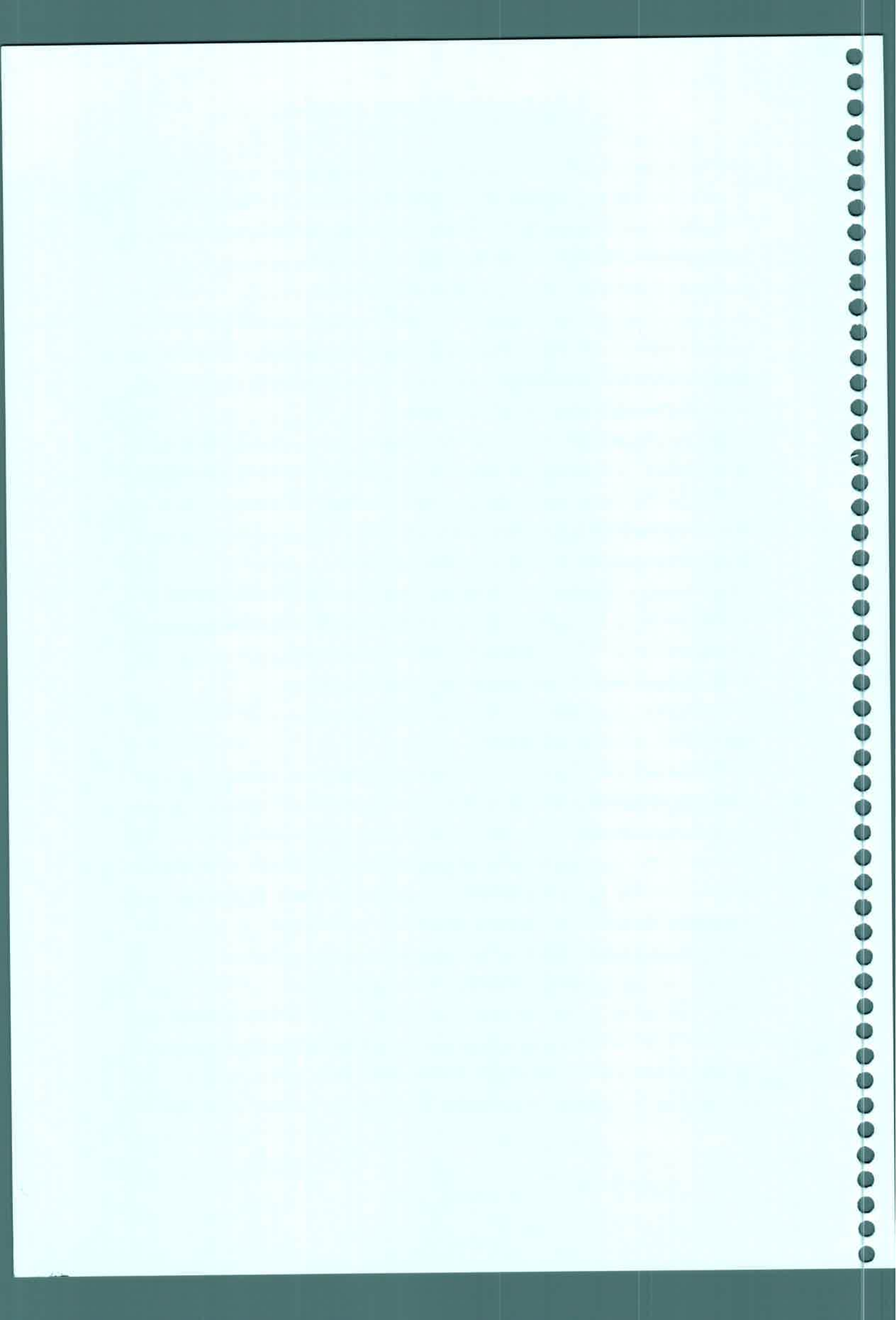
La aplicación exógena de JA produjo un incremento en el área celular y engrosamiento de las regiones meristemáticas, una reducción en la longitud de los primordios foliares y una temprana diferenciación de tejidos vasculares determinando el crecimiento del tubérculo (Cenzano y col., 2003). Aunque la acción de JA sobre la expansión celular había sido previamente informada por Takahashi y col. (1994) en discos de tubérculos maduros y por Castro y col. (1999) en yemas de tubérculos, este efecto es informado por primera vez en estolones.

La participación de JA en la diferenciación de tejidos de conducción específicamente de elementos xilemáticos es un importante hallazgo (Cenzano y col., 2003). La temprana diferenciación de tejidos vasculares en la región apical se relaciona directamente con el transporte de agua, iones y azúcares conducidos hacia el ápice, compuestos esenciales para la formación del tubérculo. A pesar de que en este trabajo observamos diferenciación de xilema y no de floema es un hecho conocido que la formación de floema ocurre previamente a la de xilema. Por lo tanto, para visualizar el tejido floemático hubiese sido necesario realizar cortes histológicos transversales en vez de los cortes longitudinales utilizados en nuestra investigación.

En base a lo mencionado JA exógeno actuaría de igual manera que el compuesto endógeno en la formación del tubérculo.

Considerando que la acción de JA desencadena un efecto fisiológico definido como el de tuberización y que ciertos lípidos podrían actuar como mediadores de esta respuesta, estolones de los primeros estadios ontogénicos se estimularon con JA exógeno. Existen escasos antecedentes bibliográficos que aborden el estudio de modificaciones del patrón fosfolípido en vegetales por efecto de estimulaciones hormonales. En general los cambios lipídicos y la participación de las enzimas involucradas son ampliamente estudiados en respuesta a diversos factores de estrés y no en procesos que ocurren normalmente en la vida de una planta.

La disminución de PS provocada por JA en el 1er estadio indicaría una movilización de este lípido para la formación de otros fosfolípidos estructurales en el siguiente estadio, como PE mediante la intervención de la enzima fosfatidilserina decarboxilasa. Sin embargo, al no separar PE de PG no podemos afirmar que la



disminución de PS sea consecuencia de la formación de PE. Además, PE conjuntamente con PC, sustratos de PLD, podrían contribuir a la formación de PA.

Otra especie fosfolipídica que se modificó fue PA, el cual aumentó en el 2do estadio por efecto de JA. La producción de mensajeros lipídicos como PA se atribuye a la acción de múltiples fosfolipasas, por ej. PLD y PLC.

La importante disminución de PC por efecto de JA en el primer estadio sugiere hidrólisis de PC por activación de PLD o PLC. Nuestros resultados (disminución de PS y PC, y posterior aumento de PA) indican que una PLD sería activada por JA.

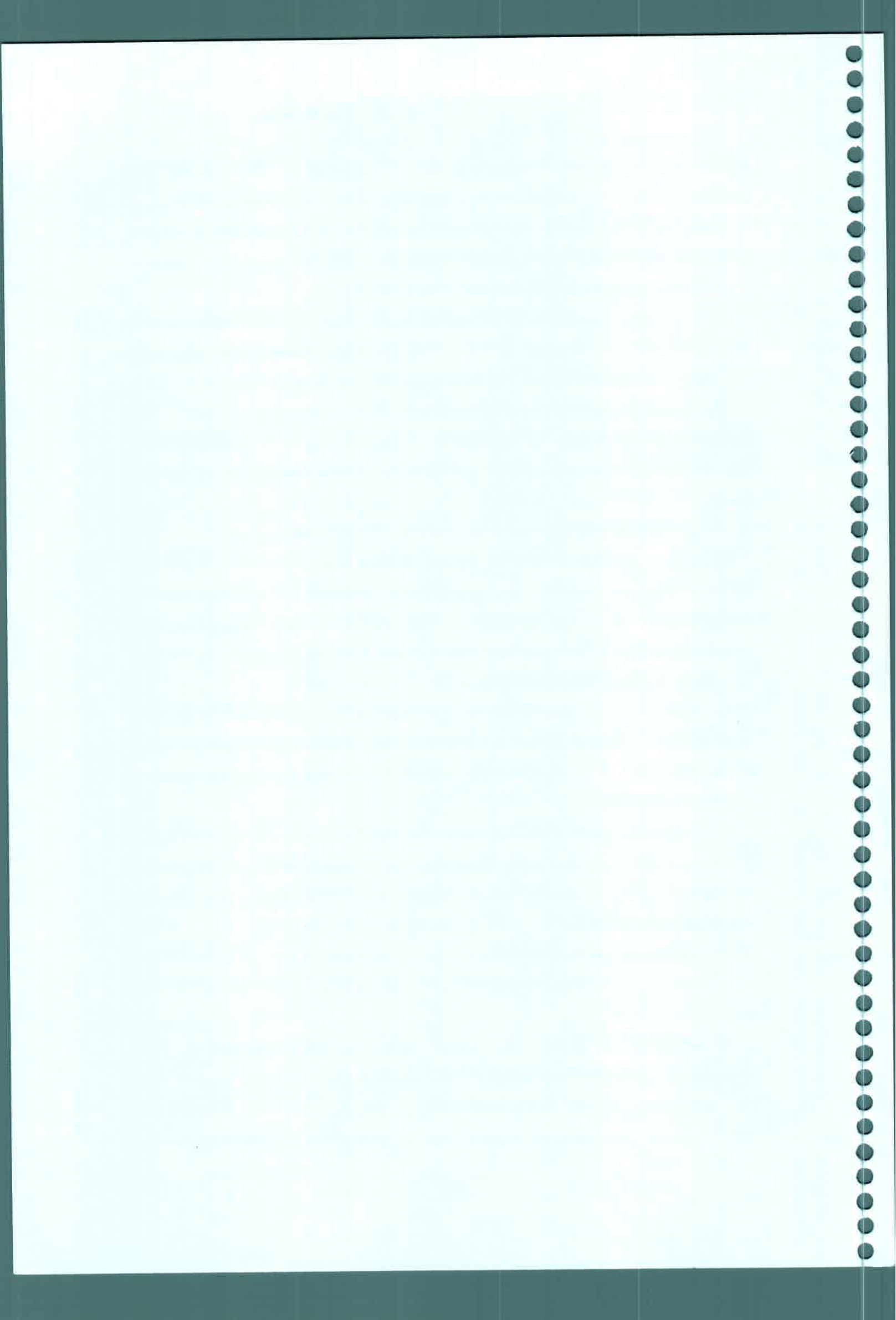
Puesto que no encontramos cambios significativos en los fosfoinosítidos y no analizamos producción de lisofosfolípidos, no podemos sugerir la participación de otras fosfolipasas tales como PI-PLC y PLA en la transducción de la señal mediada por JA.

Los polifosfoinosítidos se encuentran en bajas concentraciones en tejidos vegetales y animales, y a pesar de que no existen antecedentes de elevados niveles de fosfoinosítidos en tejidos, los estolones y tubérculos poseen importante concentraciones de estos compuestos. Para confirmar estos resultados sería conveniente utilizar técnicas que contemplen el uso de especies radioactivas, de fácil incorporación y metabólicamente estables (Munnik y col., 1998).

La participación de fosfolipasas en la producción de 2dos mensajeros ha sido intensamente estudiada en respuesta a daño mecánico; sin embargo estudios recientes han informado que estas enzimas están involucradas en otros procesos no mediados por factores de estrés.

El hallazgo de que la expresión “*antisense*” de PLD α en hojas de *Arabidopsis* sometidas a daño mecánico causa disminución en la síntesis de PA, de JA y en la expresión de genes regulados por JA (Wang y col., 2000), indican una estrecha relación entre esta enzima, PA y JA. Previamente, Lee y col. (1997), Ryu y Wang (1998), informaron que la activación de PLD y el consecuente incremento de PA por efecto del daño por heridas era producido previo al aumento de lisofosfolípidos y de ácidos grasos libres.

La activación de PLD α podría inducir incremento en la actividad de PLA conduciendo a la liberación de ácidos grasos insaturados para la síntesis de oxilipinas, tales como JA (Zien y col., 2001) y atenuando de este modo la PLD α (Wang y col. 2000). Además, una nueva PLD identificada en *Arabidopsis* (PLD δ) se activa por



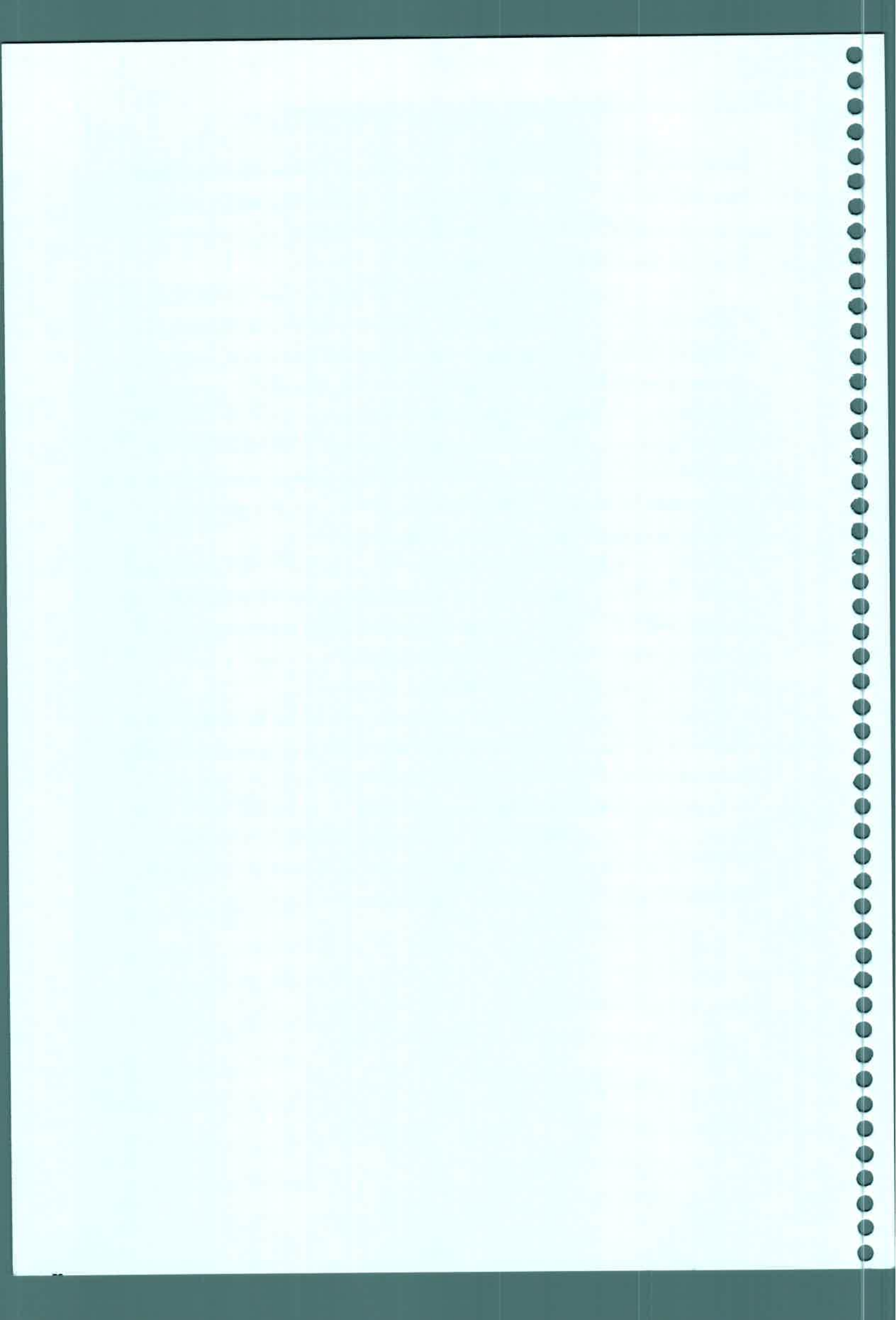
ácidos grasos insaturados (ácido oleico > ácido linolénico) y está asociada a membrana plasmática (Wang y Wang, 2001), y la acción en concierto de varias fosfolipasas: $PLD\alpha \rightarrow PLA \rightarrow PLD\delta$, podría ser responsable de la producción de mensajeros lipídicos en las respuestas de defensa (Wang y col., 2002).

En adición, en membranas de tabaco BY-2 se identificó una $PLD\delta b$ ligada a microtúbulos corticales la cual podría actuar como nexo entre la membrana plasmática y los microtúbulos, traduciendo señales hormonales y ambientales a estos elementos (Gardiner y col., 2001; Munnik y Musgrave, 2001). Los microtúbulos, componentes principales del citoesqueleto en plantas, están involucrados en importantes funciones celulares que ocurren durante el crecimiento y el desarrollo (Kost y col., 1999; Nick, 1999). Ellos desempeñan también un papel primordial en la dirección de la expansión celular (Giddings y Staehelin, 1991; Hable y col., 1998) a través de su interacción con la disposición de microfibrillas de celulosa (Williamson, 1991).

El reciente hallazgo de que una PLD se une a los microtúbulos y la consideración que JA: **i)** modifica la orientación de los microtúbulos en células de papa en suspensión (Matsuki y col., 1992), **ii)** induce expansión celular en meristema apical de estolones (Cenzano y col., 2003), **iii)** causa aumento de PA, la generación de PA por una PLD estimulada por JA parece un hecho muy probable.

En resumen, JA y sus derivados hidroxilados estimularían la formación del tubérculo por expansión celular, engrosamiento del meristema y diferenciación de los tejidos vasculares. La tuberización como respuesta fisiológica mediada por JA involucra a PA como un 2do mensajero determinante de un posible cambio en la disposición de los microtúbulos conducente a la expansión celular isodiamétrica.

A continuación se muestra un esquema integrador de los resultados obtenidos en este trabajo de tesis con las conclusiones más relevantes (Fig. 47).



A

- ✔ En los estadios ontogénicos de formación de tubérculos se identificaron diversos miembros de la familia de JAs.
- ✔ Los niveles endógenos de JAs fueron diferentes en regiones bien diferenciadas tales como ápices y estolones.

B

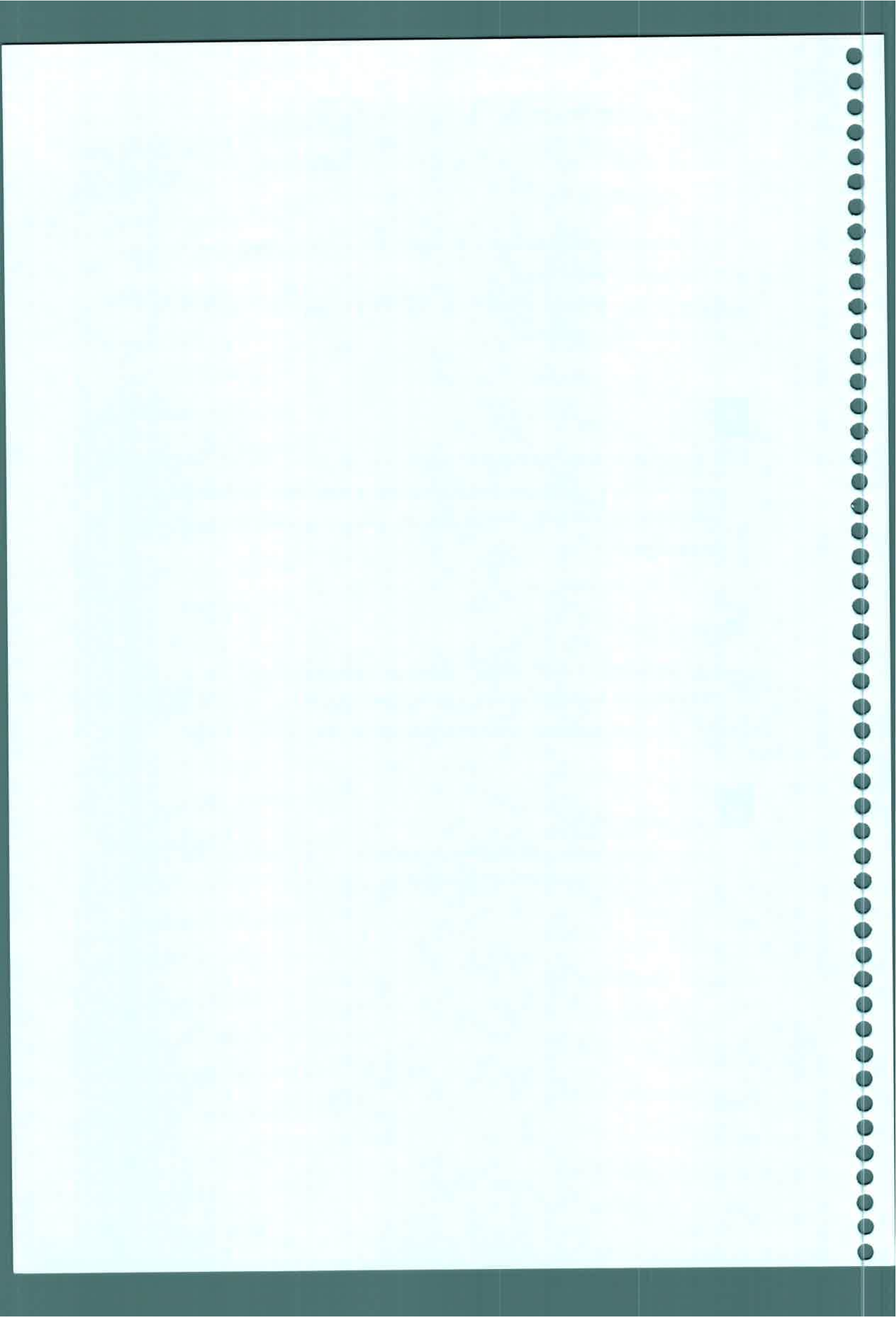
- ✔ El contenido de fósforo total fosfolípídico y de los fosfolípidos PA, PS y PI se modificó durante la ontogenia. Se hipotetiza que la disminución de fosfolípidos se correlacionaría con la síntesis de galactolípidos, entre ellos MGDG posible precursor de JA.



- ✔ La estimulación con JA produjo cambios en el patrón de fosfolípidos (PC, PS, PA) durante la formación de tubérculo sugiriendo posible activación de PLD o PLC. Este hecho conduciría a la reorientación de los microtúbulos corticales.

D

- ✔ Los eventos antes mencionados determinarían la expansión celular y la temprana diferenciación de tejidos vasculares en estolones.



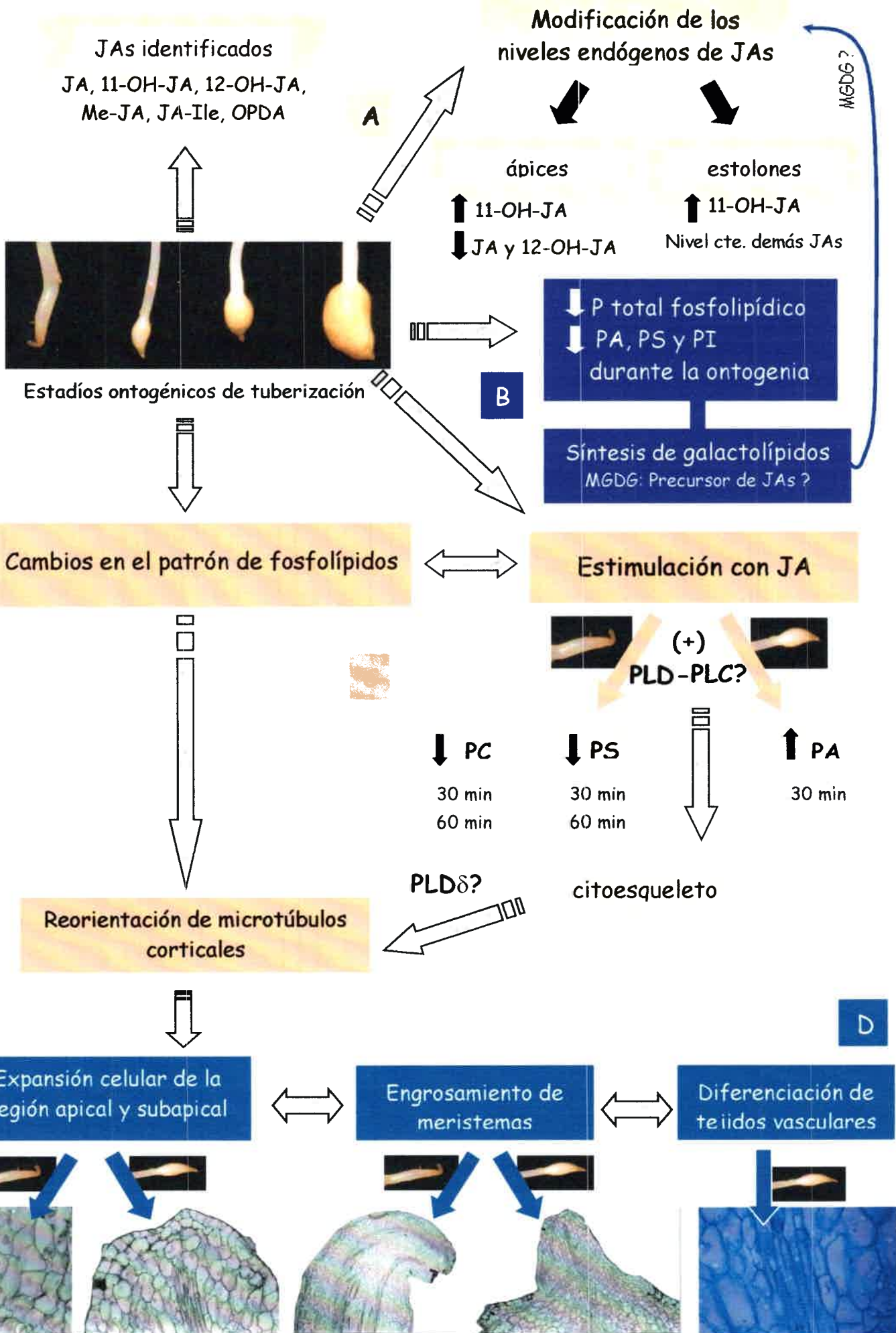


Fig. 47. Esquema integrador.



MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Material vegetal

Tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L. cv. Spunta) libre de virus, calibrados a 150 - 250 g de peso, se plantaron en invernáculo. El ensayo se condujo bajo una termoperiodicidad de 12°C a 30°C a la fecha de plantación (20 de Agosto) y un fotoperíodo de 14-15 hs de luz. En el momento de la aparición de los estolones (Fig. 48), luego de 6-8 semanas, se recolectaron secuencialmente muestras correspondientes a los diferentes estadios de la transformación del estolón a tubérculo: **1er estadio**: estolón con ápice curvo (Fig. 49A), **2do estadio**: inicio de ensanchamiento del meristema subapical del estolón (Fig. 49B), **3er estadio**: estolón con meristema subapical ensanchado (Fig. 49C) y **4to estadio**: tubérculo de aproximadamente 1.2 cm de largo y 0.8 cm de diámetro (Fig. 49D). Estos órganos se congelaron en nitrógeno líquido y se conservaron a - 20°C hasta su procesamiento.



Fig. 48. Órganos subterráneos de *Solanum tuberosum* L. cv. Spunta. Se observa tubérculo madre, raíces, estolones y tubérculos en desarrollo.

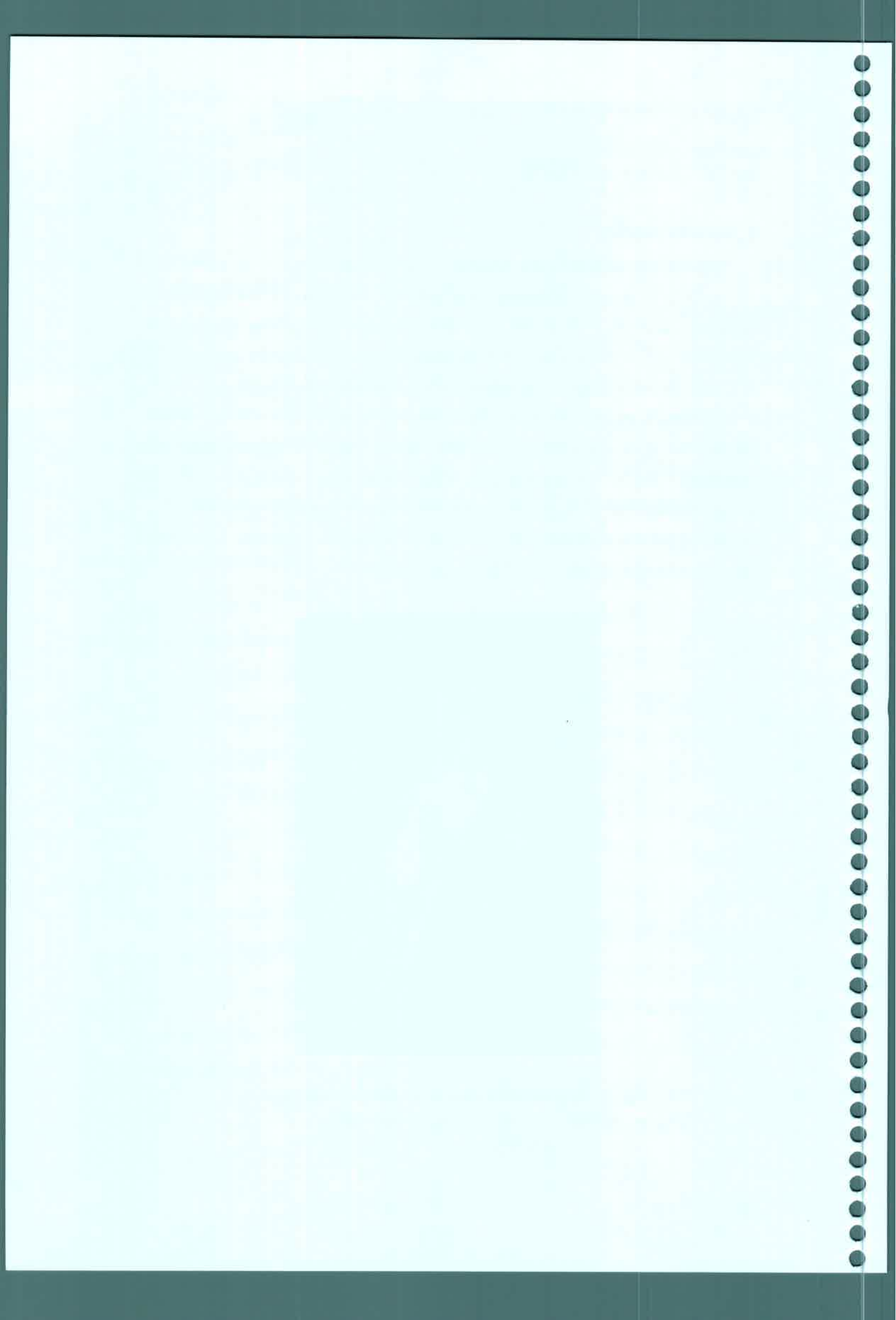




Fig. 49. **Estadíos ontogénicos de la transformación del estolón a tubérculo.** **A**, estolón con ápice curvo; **B**, inicio de ensanchamiento del meristema subapical del estolón; **C**, estolón con meristema subapical ensanchado; **D**, tubérculo de 1.2 cm de largo. La flecha indica el lugar en que fueron seccionados los órganos para su análisis posterior.

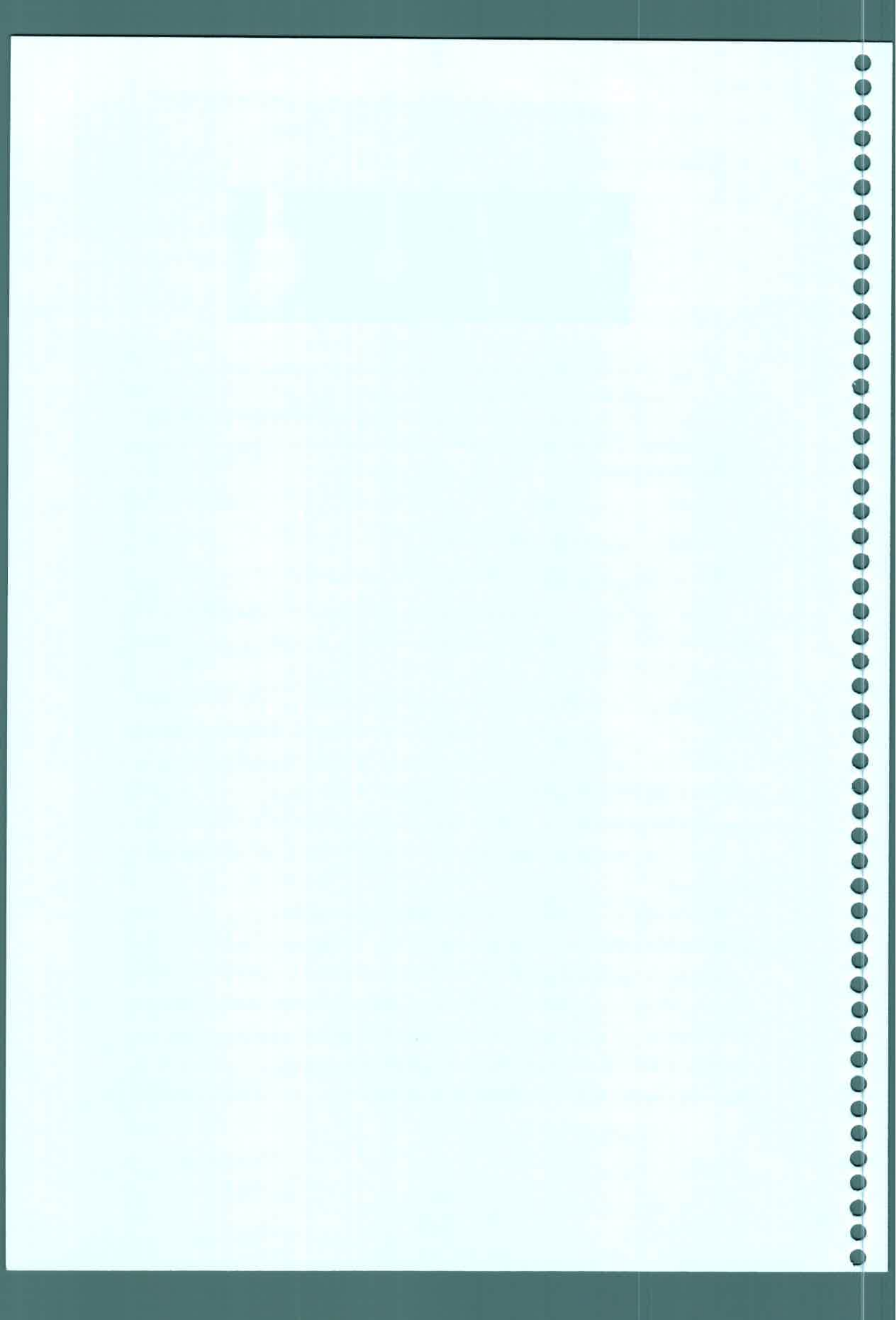
2. Contenido endógeno de jasmonatos

2.1. Extracción, purificación y estimación de jasmonatos

Para la identificación y cuantificación de JA y compuestos relacionados el material vegetal se dividió en dos áreas, la región apical (ápice) y el meristema subapical (estolón).

La extracción de jasmonatos se efectuó mediante homogeneización en mortero y luego en ultra turrax 1 g de PF de tejido en 10 ml de MeOH; los siguientes estándares se adicionaron a cada muestra: 100 ng de ($^2\text{H}_6$)JA; 100 ng de ($^2\text{H}_5$)OPDA; 100 ng de 12-($^2\text{H}_3$)O Ac-JA; 100 ng de 11-($^2\text{H}_3$)O Ac-JA, y 200 ng de JA-($^2\text{H}_3$)leucina. Posteriormente el homogenato se filtró sobre una columna con filtro de celulosa spe J.T. Baker en cámara de vacío Supelco VISIPREP DL a fin de obtener el sobrenadante.

El sobrenadante se colocó sobre una columna conteniendo 3 ml de DEAE-Sephadex A25 (Amersham Pharmacia Biotech AB, Sweden) en metanol 100%. La columna se lavó previamente con 5 ml de 1 N de ácido acético en metanol y 10 ml de metanol 100%, descartándose ambos eluidos. La elución de la muestra se realizó con 3 ml de metanol y 3 ml de 0.1 N de ácido acético en metanol (estos dos eluidos se combinaron conformando la fracción A, compuestos neutros). Posteriormente se eluyó con 3 ml de 1 N de ácido acético en metanol y 3 ml de 1.5 N de ácido acético en



metanol. Ambos eluidos se recolectaron, evaporaron y separaron por HPLC, y finalmente se analizaron por GC-MS.

A la fracción A se le agregó nuevamente 100 ng de ($^2\text{H}_6$)JA y se saponificó durante una noche a temperatura ambiente con 5 ml de 1 N de NaOH. Se acidificó a pH 3 con HCl y se agregó 5 ml de agua y 5 ml de cloroformo, permitiendo reposar esta mezcla por 2 hs. Luego se extrajo la fase inferior (cloroformo) y se le agregó sulfato de Na anhidro. El cloroformo se evaporó y el extracto seco se retomó con 3 ml de MeOH, se purificó en columna DEAE-Sephadex A-25 y se recolectaron las fracciones que contienen los compuestos ácidos. Dichas fracciones se evaporaron a sequedad, se separaron por HPLC y analizaron por GC-MS.

2.2. Cromatografía líquida de alta presión (HPLC)

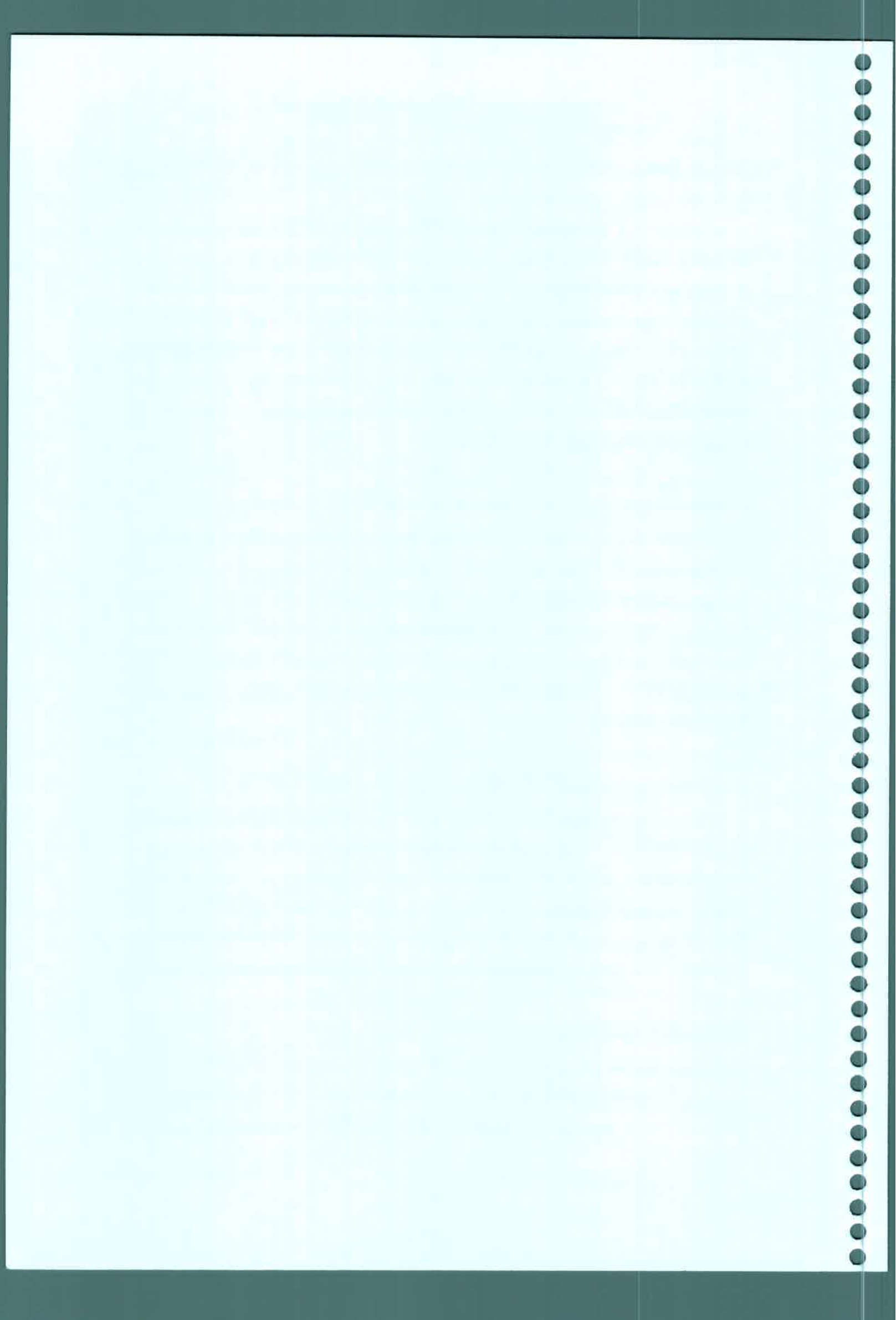
Los extractos secos se disolvieron en MeOH y se analizaron por HPLC en columna C_{18} (Eurospher 100, 5 μm 250 x 4 mm). La elución se llevó a cabo con una mezcla de solventes: solvente A-metanol, solvente B-0.2 % de ácido acético en H_2O . Gradient 40% A a 100% A en 25 min y a una velocidad de flujo de 1 ml min^{-1} . Las fracciones recolectadas fueron: a los 9.30 min, Rt de 11-OH-JA; 11 min, Rt de 12-OH-JA; 14 min, Rt de JA; 17.5 min, Rt de JA-Ile; 22.5 min, Rt de OPDA. Dichas fracciones se evaporaron a sequedad.

2.3. Derivatización para JA, OPDA, 11-OH-JA y 12-OH-JA

Los extractos se disolvieron en 200 μl de CHCl_3 / *N,N*-di-isopropil-etilamina (1:1; v/v) y se derivatizaron con 10 μl pentafluorbencilbromuro a 20°C durante una noche. Luego se llevó a sequedad y se diluyó con 5 ml de n-hexano y se pasó a través de columna SiOH (500 mg; Machery-Nagel, Germany). Los pentafluorbencil ésteres se eluyeron con una mezcla de 7 ml de n-hexano / dietiléter (2:1,v/v). Se evaporó a sequedad y el extracto se retomó con 100 μl de acetonitrilo e inyectó en un GC-MS.

2.4. Derivatización para JA-Ile

Los extractos se disolvieron en 200 μl de CHCl_3 / *N,N*-di-isopropil-etilamina (1:1; v/v) y se derivatizaron con 10 μl pentafluorbencilbromuro a 20°C durante una noche. Luego se llevó a sequedad y se diluyó con 0.5 ml de éter y se le agregó 5 ml de n-



hexano, y se volcó en una columna SiOH (500 mg; Chromabond), la cual fue eluida con:

Solución a: 5 ml de la mezcla de 3 ml de n-hexano + 1 ml de éter, descartar

Solución b: 5 ml de la mezcla de 2 ml de n-hexano + 1 ml de éter, descartar

Solución c: 5 ml de la mezcla de 1 ml de n-hexano + 1 ml de éter, evaporar. La fracción C se retomó con 100 μ l de acetonitrilo e inyectó en un GC-MS.

2.5. Cromatografía gaseosa-espectrometría de masa (GC-MS)

Se utilizó un GC-MS GCQ Finnigan, 70 eV, de ionización química negativa. El gas de ionización fue NH_3 ; la columna utilizada fue Rtx-5w/Integra Guard (Restek, Germany) (5m, precolumna conectada con una columna de 30 m x 0.25 mm, 0.25 μ m de grosor. La temperatura de inyección fue de 250°C, la temperatura de la interfase de 275°C; gas helio 40 cm s^{-1} .

3. Contenido de proteínas totales

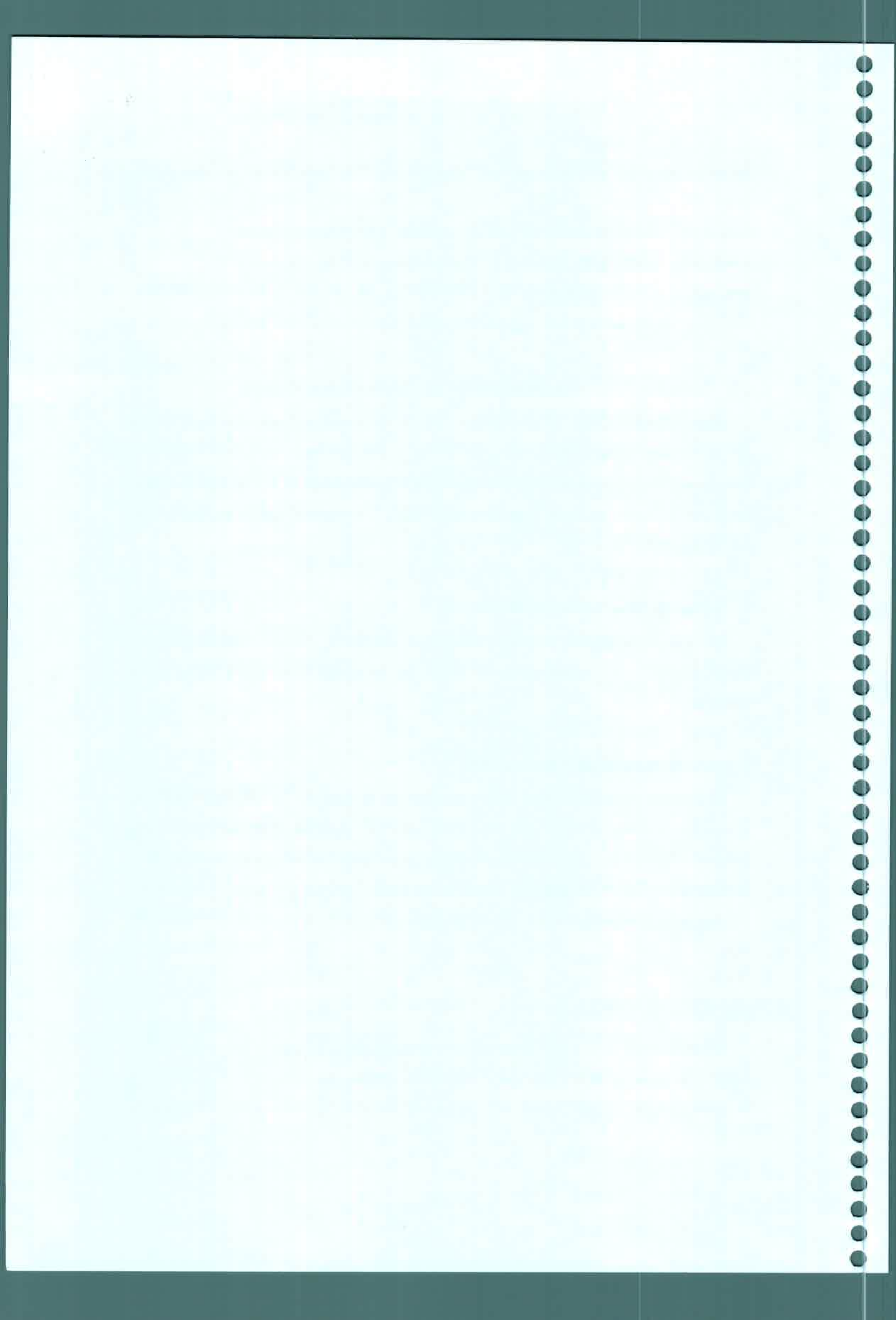
La concentración de proteínas totales se determinó por el micrométodo de Bradford (1976) empleando albúmina sérica bovina (1mg/10 ml NaCl 0.9%) como estándar.

3.1. Obtención del extracto crudo

El extracto crudo se realizó teniendo en cuenta la relación 1 g PF/8 ml buffer de extracción (buffer fosfato pH 7). Para ello se pesaron 150 mg de tejido correspondiente a los diferentes estadios de la transformación del estolón a tubérculo y se homogenizó en N_2 líquido con dos ciclos de congelamiento y descongelamiento. El homogenato se resuspendió en 1.2 ml de buffer de extracción y se agitó durante 30 min.

3.2. Curva de calibración

Se realizaron soluciones proteicas conteniendo de 1-10 μ g de albúmina sérica bovina las cuales se llevaron a 100 μ l con buffer fosfato. Se adicionó 1 ml de reactivo, se agitó e incubó durante 5 min a T° ambiente. Se midió la absorbancia a 595 nm en



espectrofotómetro Spectronic Génesis 5 y se graficó la cantidad de proteína en función de la absorvancia, resultando una curva de calibración.

3.3. Determinación de proteínas totales

Se colocó 3 μ l del homogenato obtenido, 97 μ l de buffer de extracción, se agregó 1 ml de reactivo y se incubó durante 5 min a T° ambiente.

El contenido de proteínas totales se determinó por la lectura de absorvancia a 595 nm contra un blanco de agua. Los valores de absorvancia de las muestras se multiplicaron por el factor 2 (F2) de la curva de calibración.

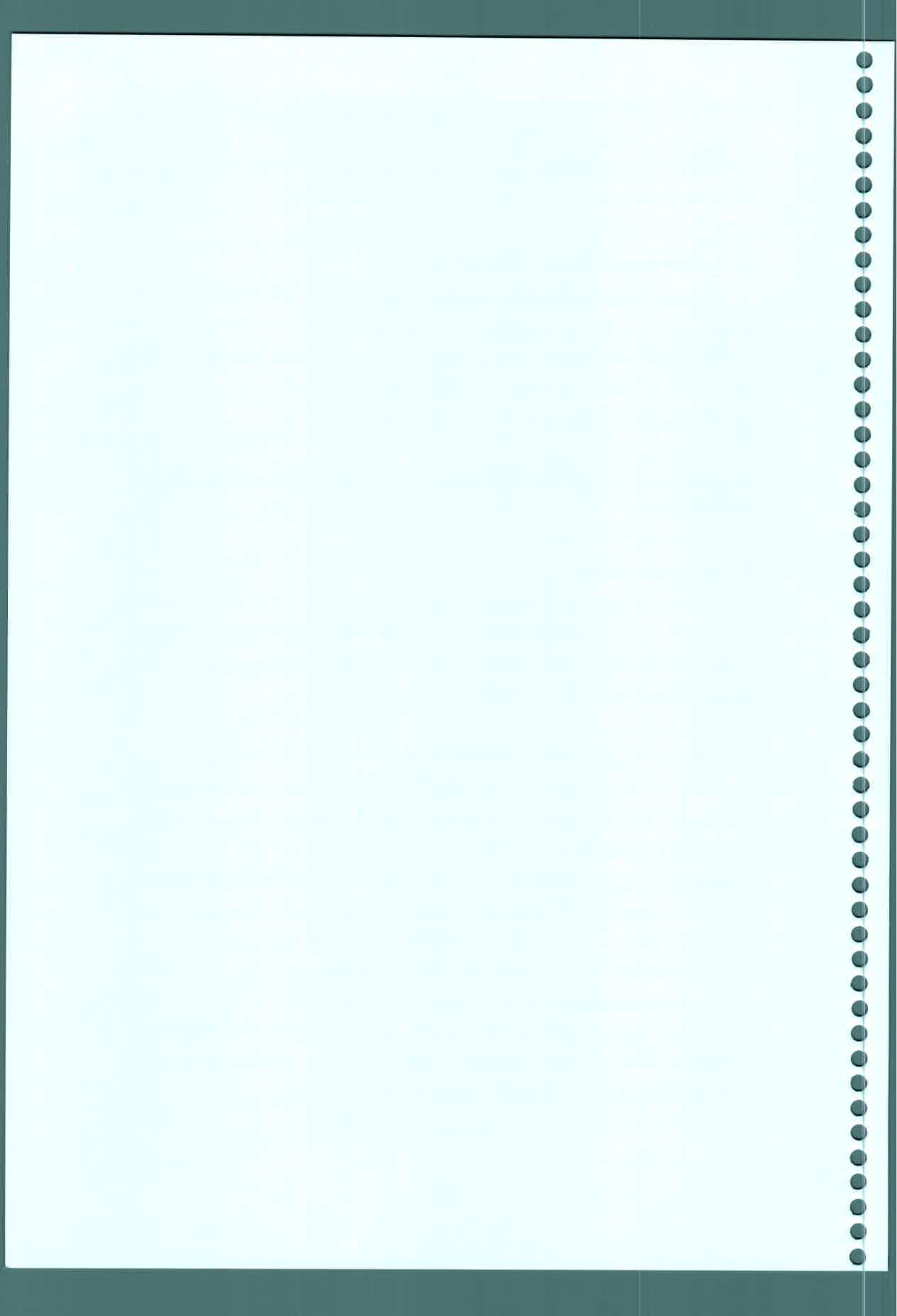
4. Cuantificación de fósforo total fosfolipídico y de cada especie fosfolipídica

4.1. Material vegetal

Diferentes estadios de la transición del estolón a tubérculo (1er al 4to estadio) conservados a -20°C fueron utilizados para la determinación del contenido de fósforo y de especies fosfolipídicas tanto en tejidos controles (no estimulados) como estimulados con JA a diferentes tiempos.

4.2. Incubación del tejido y estimulación con JA

Segmentos de ápices correspondientes al 1er y 2do estadio, de 1 cm de longitud se seccionaron en pequeños trozos. 500 mg de PF de tejido control se colocaron en 10 ml de solución amortiguadora pH 6.5 (succinato de Na 50 mM, KCl 5 mM, EDTA 1 mM y sacarosa 0,25 M); asimismo 500 mg de PF de tejido a ser sometido a estimulación con JA se colocaron en 7.9 ml de la misma solución amortiguadora. Ambos tejidos se incubaron durante 15 min en baño de agitación a 25°C y 100 rpm a fin de lograr una estabilización del sistema. Posteriormente, se adicionó 2.1 ml de solución amortiguadora conteniendo 1×10^{-6} M de JA y se incubó durante 7, 15, 30 y 60 min. Transcurrido estos tiempos se retiraron del baño de agitación los erlenmeyers conteniendo tejidos controles y estimulados con JA. El exceso de hormona se eliminó mediante 3 lavados con solución amortiguadora fría.



4.3. Obtención del homogenato

El tejido control de los estadios de la transformación de estolón a tubérculo, como así también el tejido correspondiente al 1er y 2do estadio estimulado con JA, se colocó en mortero, se le adicionó 30 μ l de inhibidor de proteasas y 750 μ l de solución amortiguadora para la primera homogenización. Se realizaron tres ciclos de congelamiento y descongelamiento con nitrógeno líquido. Posteriormente se resuspendió en 400 μ l de la misma solución amortiguadora a fin de continuar con los pasos de extracción lipídica.

4.4. Extracción lipídica

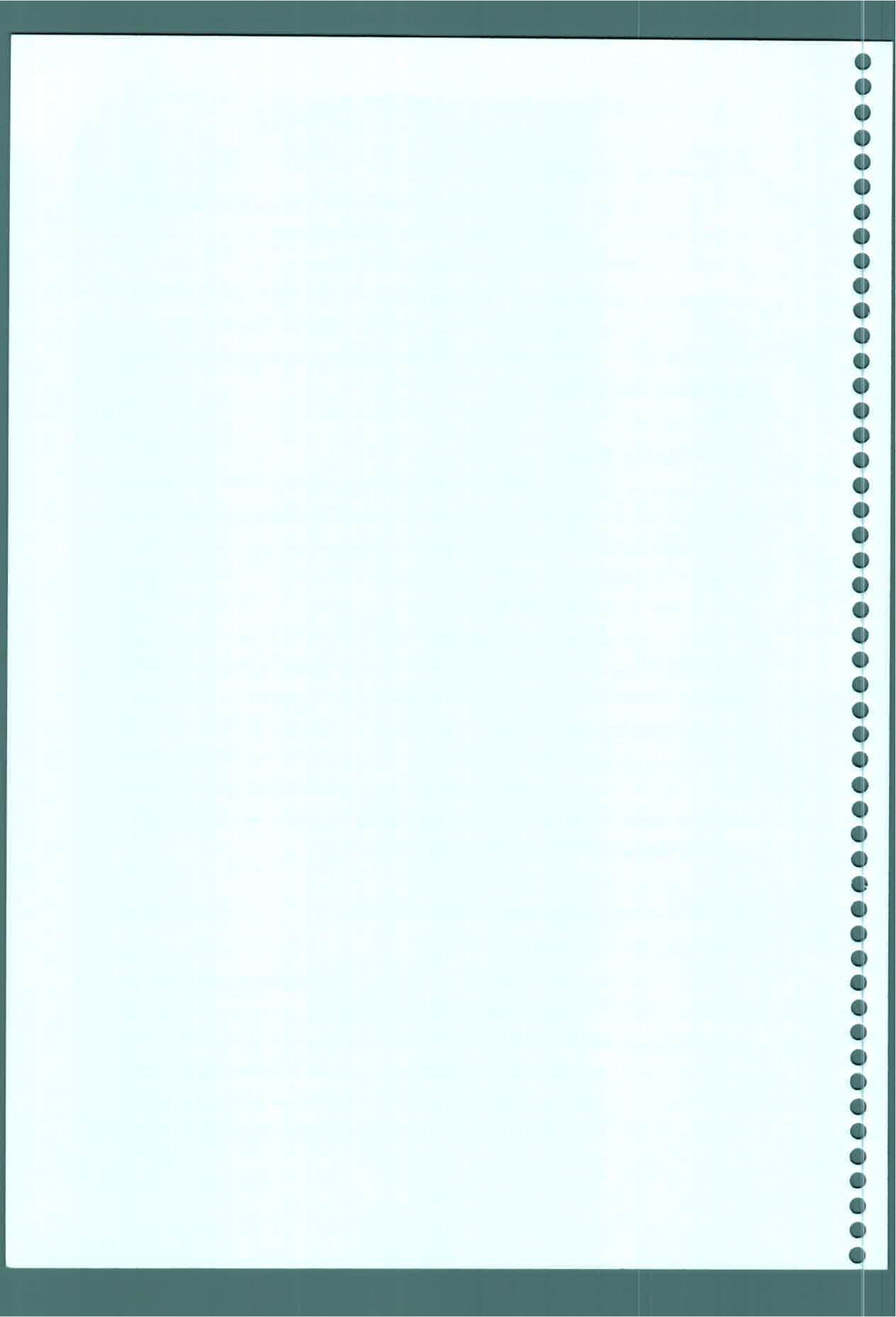
La extracción lipídica se realizó de acuerdo al método de Bligh y Dyer (1959). Al homogenato obtenido se le agregó 4,7 ml de una solución de cloroformo/metanol (1:2, v/v) y se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugó a baja velocidad, el precipitado se sometió a una segunda extracción y el sobrenadante se conservó para ser utilizado posteriormente.

Para la segunda extracción se adicionaron 5,9 ml de una mezcla de cloroformo/metanol/0,2 N HCl (1:2:0,8, v/v), se agitó durante 1 min y luego se centrifugó nuevamente a baja velocidad durante 30 min. El precipitado se descartó; ambos sobrenadantes se reunieron y se llevó a un volumen de 12,25 ml con cloroformo/metanol (1:2, v/v). Se adicionó 3,1 ml de cloroformo y 10,2 ml de KCl 0,1M en MeOH 50%, para la obtención de dos fases (Racagni y col., 1992). La fase inferior se utilizó para el estudio del contenido de fósforo total y para determinar el contenido de fósforo presente en cada especie fosfolipídica.

4.5. Determinación de fósforo total fosfolipídico

4.5.1. Curva de calibración

Para la cuantificación de fósforo se siguió la técnica descrita por Fiske y Subbarow (1925) y Dodge y Phillips (1967). Se emplearon soluciones testigos de fosfato de potasio monobásico de diferentes concentraciones realizadas a partir de una solución madre 0.5 mM, las cuales se mineralizaron con 1 ml ácido perclórico 70 % a 180°C durante 2 h bajo campana. Posteriormente se dejó enfriar a T° ambiente. Se llevaron a 2.6 ml con agua bidestilada. Se adicionó 2 ml de molibdato de amonio 1 %,



200 μl de reactivo Fiske-Subbarow y se completó con agua bidestilada hasta un volumen de 6 ml, agitándose en cada paso. Se calentaron las soluciones testigos a baño María durante 10 min y se colocaron a 0°C durante 15 min. Las lecturas de absorbancia se realizaron a 830 nm en un Spectronic Génesis 5 y se determinó la cantidad de fósforo en función de la absorbancia, resultando una curva de calibración lineal hasta una concentración final de fósforo de 0.042 mM (7.75 $\mu\text{g P}$).

4.5.2. Cuantificación de fósforo total fosfolipídico

Se utilizaron 500 μl de fase inferior extraídos y evaporados en speed vac para la determinación del contenido de fósforo total. Muestras, soluciones blanco y testigo (realizada por triplicado, 200 μl KH_2PO_4 0.5 mM) se mineralizaron con 1 ml de ácido perclórico 70 % a 180°C durante 2 h bajo campana. Se dejaron enfriar a T° ambiente y se llevaron a 2.6 ml con agua bidestilada. Se adicionó 2 ml de molibdato de amonio 1 %, 200 μl de reactivo Fiske-Subbarow y se completó con agua bidestilada hasta un volumen de 6 ml, agitándose en cada paso. Se calentaron las muestras a baño María durante 10 min y se colocaron a 0°C durante 15 min.

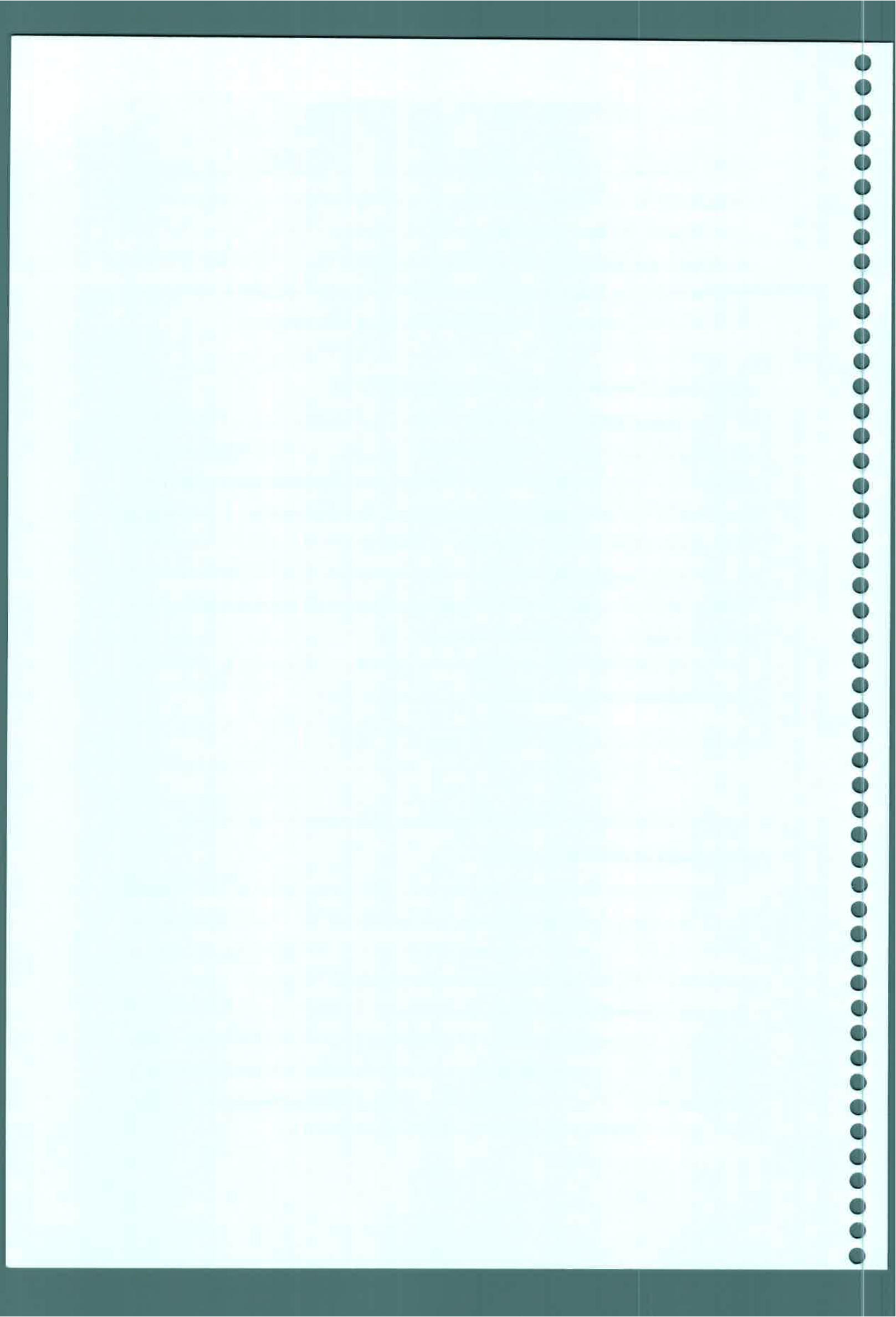
Las lecturas de absorbancia se efectuaron a 830 nm y se determinó la cantidad de fósforo utilizando la siguiente relación:

valor absorbancia de 200 μl de KH_2PO_4 0.5 mM \equiv 3.1 μg fósforo

4.6. Determinación de fósforo presente en cada especie fosfolipídica

4.6.1. Separación de fosfolípidos

Los fosfolípidos individuales se obtuvieron por cromatografía en capa delgada (TLC), en placas de sílica gel 60-Merck, impregnadas con una solución de oxalato de potasio 1%, EDTA 2 mM en metanol/agua (2:3, v/v). Previamente a ser utilizadas se activaron a 110°C durante 60 min. Muestras conteniendo 500 μl de FI evaporada en speed vac se retomaron con cloroformo / metanol (9:1, v/v) 3 veces consecutivas (25 μl , 30 μl y 35 μl respectivamente) para su siembra. 10 μl de cada fosfolípido testigo se sembró como estándar. Los fosfolípidos testigos fueron: fosfatidilinositol (PI), fosfatidilserina (PS), fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilglicerol (PG), ácido fosfatídico (PA) y cardioplipina (CL).



El sistema de solventes utilizado para el desarrollo de los cromatogramas fue: cloroformo/acetona/metanol/ácido acético/agua (40:15:14:12:7, v/v).

4.6.2. Determinación del patrón fosfolipídico

Los fosfolípidos fueron visualizados mediante tinción de la placa durante 1 min con una solución de ácido fosfomolibdico (Kirchner, 1978). Posteriormente, la placa se secó observándose manchas de color azul. Los diferentes fosfolípidos se identificaron por comparación de sus frentes de referencia (Rf) con los testigos correspondientes.

4.6.3. Cuantificación de fósforo contenido en cada especie fosfolipídica

Se cuantificó el fósforo contenido en cada especie fosfolipídica, previa identificación de cada una de ellas en TLC en el sistema de solvente empleado. Para lo cual, los tubos conteniendo la solución blanco, la solución testigo (200 μ l KH_2PO_4 0.5 mM), y las diferentes manchas extraídas de la placa cromatográfica se mineralizaron y se procedieron a cuantificar de igual modo a lo descrito en el punto 5.5.2.

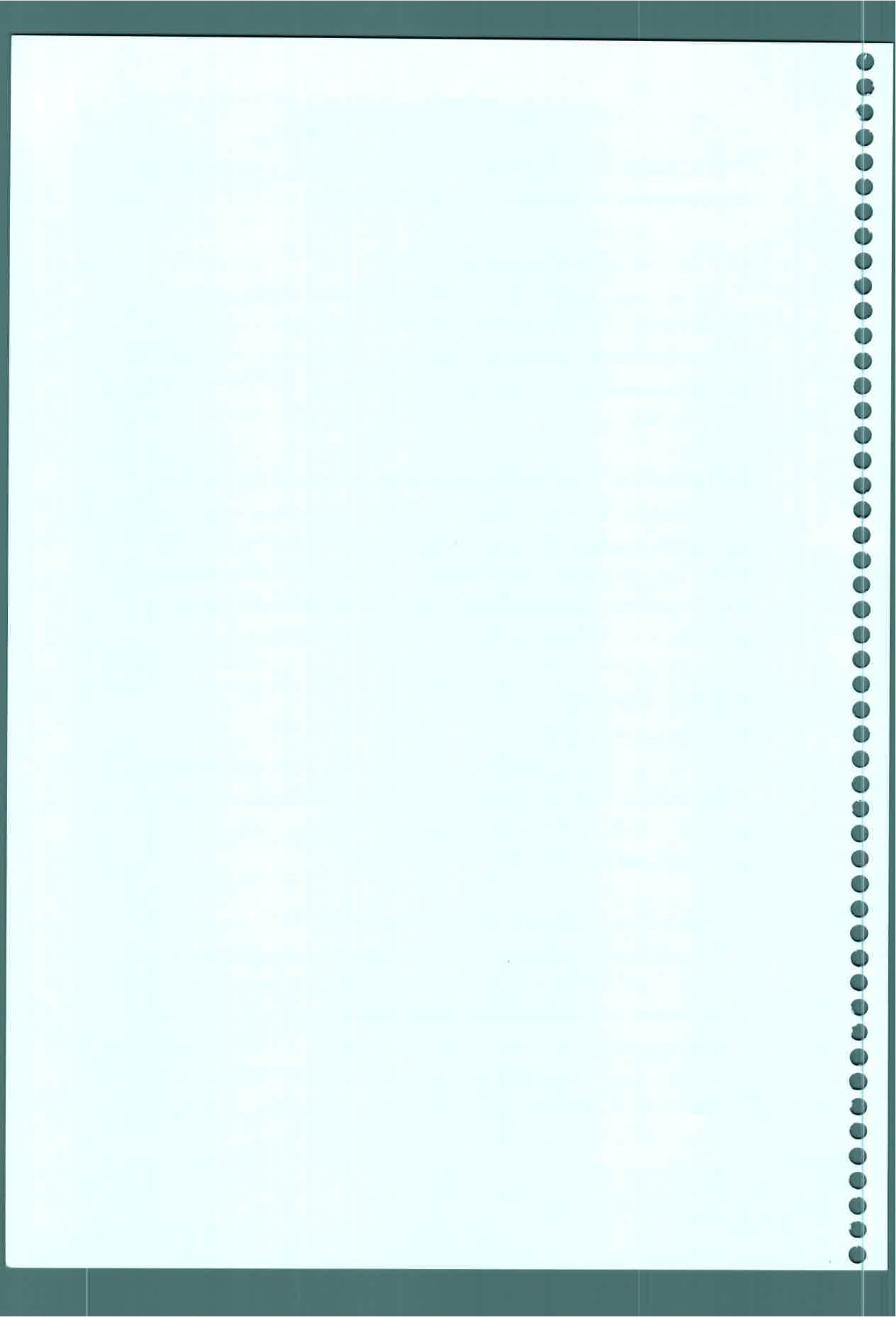
5. Análisis histológico

5.1. Aplicación exógena de JA

Estolones y tubérculos de papa del 1er y 2do estadio recién cosechados fueron lavados con agua destilada, seccionados a 1 cm de longitud del ápice y colocados en una solución de JA 3×10^{-8} M durante 3 días. Posteriormente el exceso de hormona fue eliminado mediante tres lavados con agua bidestilada.

5.2. Preparación de tejidos para microscopía óptica

Estolones y tubérculos de papa del 1er y 2do estadio controles y tratados con JA se colocaron en una solución de FAA (alcohol etílico 96°, agua, formol, ácido acético glacial; 50:35:10:5). Posteriormente, se deshidrataron en una serie de alcohol etílico, clarificaron en xilol, e incluyeron en Histowax (D' Ambrogio, 1986). Se realizaron cortes longitudinales con un micrótopo rotativo de 10 micras, los cuales se colorearon siguiendo la técnica Modificación de Safranina Fast Green (Dizeo de Strittmatter,



1979) para su posterior observación en microscopio óptico Carl Zeiss Axiophot con cámara fotográfica incorporada.

5.3. Medición del área celular

El área celular se evaluó en los preparados histológicos mediante un analizador de imágenes Kontron elektronik usando el Programa VIDAS 25. Se delimitaron dos zonas de análisis en las células del cuerpo que constituyen el meristema apical: **zona I**, correspondiente a células madre centrales; **zona II**, células del meristema medular. Los valores obtenidos como número de pixes fueron multiplicados por un factor de corrección dado por el aumento del microscopio (20).

6. Visualización de granos de almidón

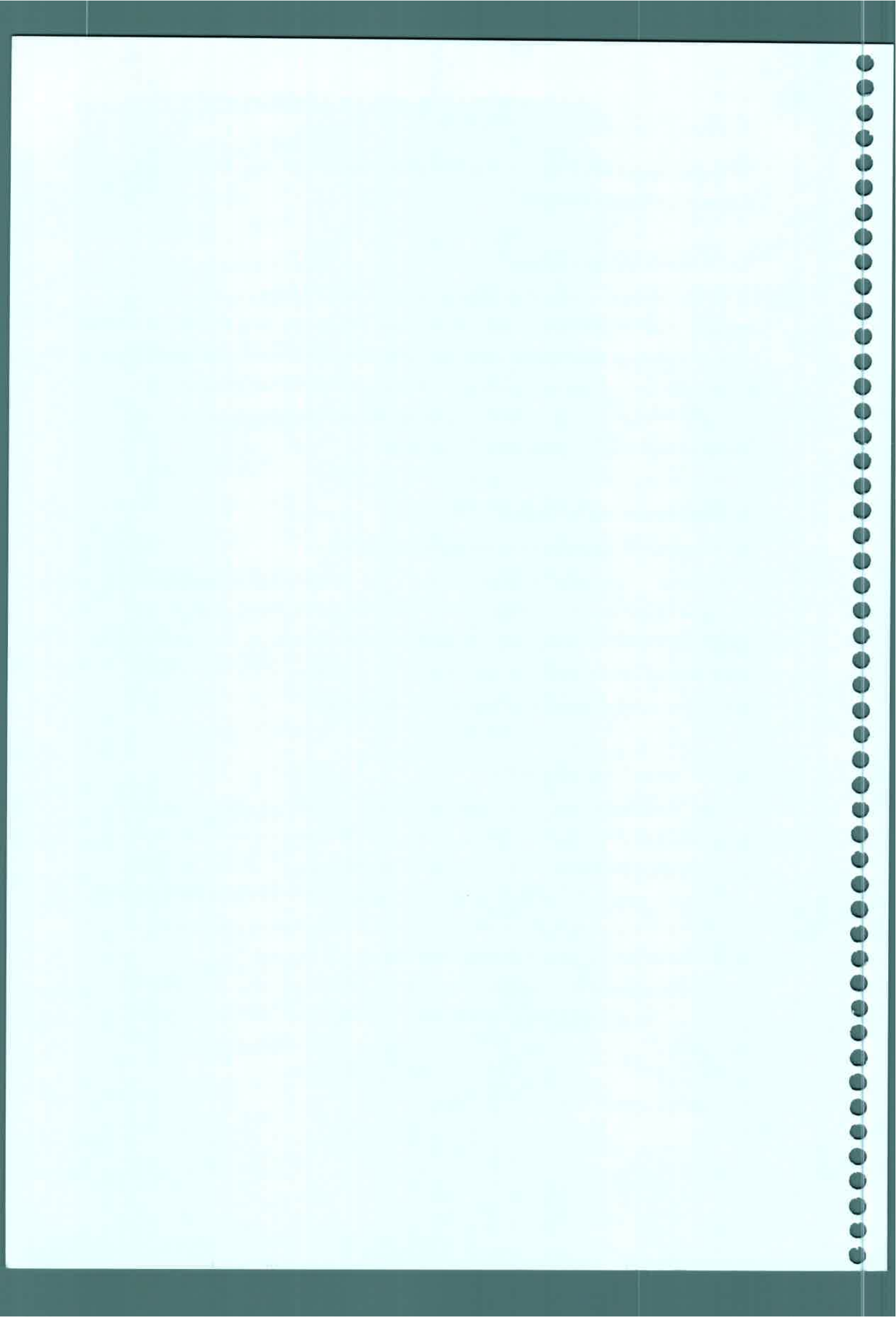
6.1. Preparación de tejidos para microscopía óptica

Estolones y tubérculos de papa del 1er y 4to estadio recién cosechados se colocaron en una solución de FAA (alcohol etílico 96°, agua, formol, ácido acético glacial; 50:35:10:5). Posteriormente, se deshidrataron en una serie de alcohol etílico, clarificaron en xilol e incluyeron en Histowax (D' Ambrogio, 1986). Se realizaron cortes longitudinales con un micrótopo rotativo de 10 micras.

6.2. Reconocimiento de almidón

Para el reconocimiento de polisacáridos totales y almidón se utilizó la prueba histoquímica de PAS (Harris y Oparka, 1994). Para ello, los cortes se hidrataron en una serie de xilol-alcohol 50°-agua destilada; se colocaron en solución de ácido perhiódico durante 5 min y se lavaron con agua. Luego, se cubrieron con el reactivo de Schiff en oscuridad durante 10-15 min, se realizaron baños sulfurosos y se lavaron con agua corriente. Por último se deshidrataron en serie alcohol 50°- xilol.

El montaje se realizó en Bálsamo de Canadá y la observación de los preparados se realizó en microscopio óptico Carl Zeiss Axiophot con cámara fotográfica incorporada.



ANÁLISIS ESTADÍSTICO

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

1. Contenido endógeno de jasmonatos

Las evaluaciones se realizaron a partir de material recolectado en tres experimentos independientes y cada determinación corresponde a un conjunto de 10 plantas.

Los datos obtenidos fueron sometidos a prueba de homogeneidad de varianzas, ANOVA y test a posteriori (LSD) empleando el Software STATISTICA (StatSoft, Inc., 1999 para Windows).

2. Contenido de proteínas totales

Los datos obtenidos fueron sometidos a prueba de homogeneidad de varianzas y ANOVA. Se realizaron cuatro experimentos independientes.

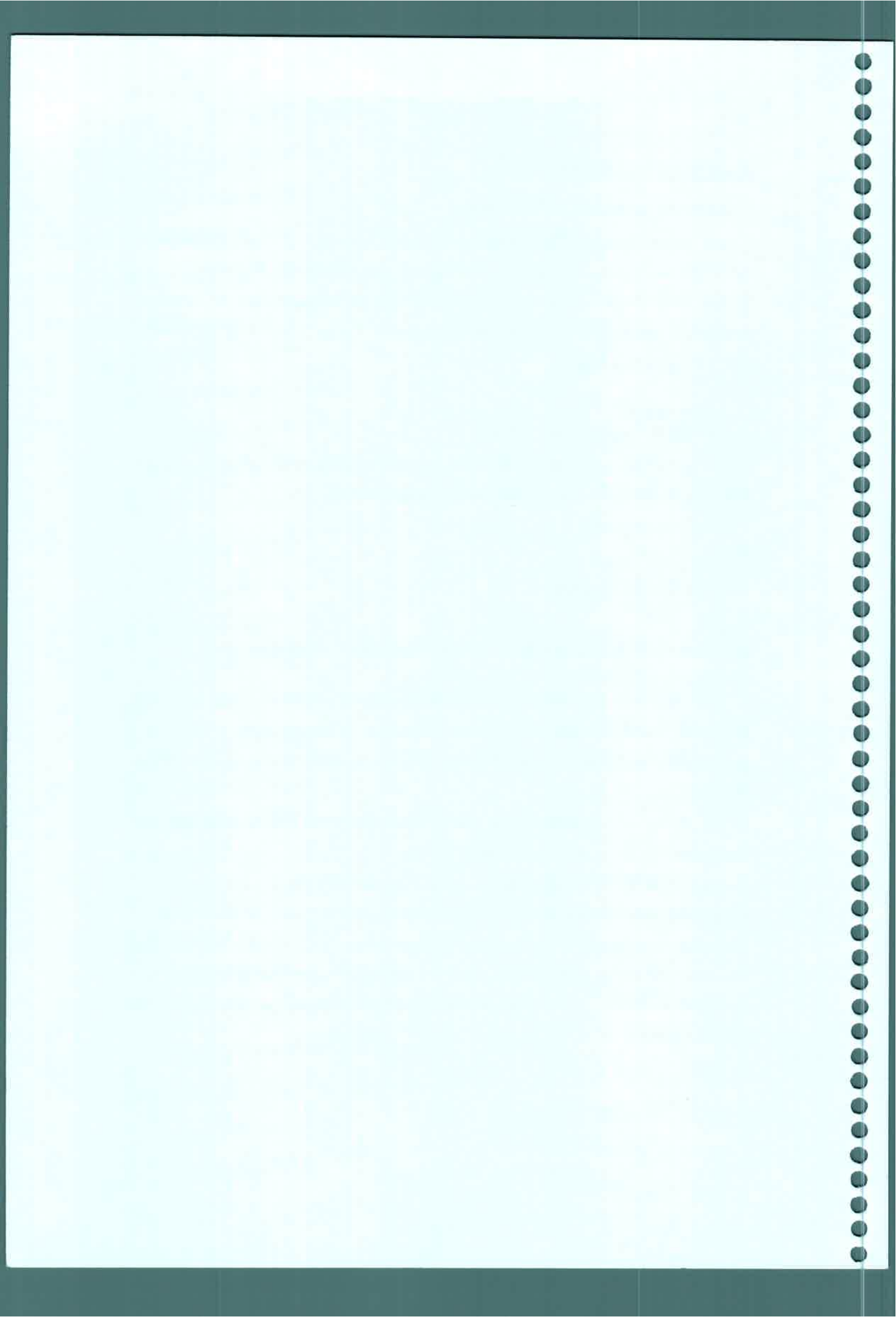
3. Contenido de fósforo

3.1. Contenido de fósforo total fosfolipídico de estadios controles

Los datos obtenidos fueron sometidos a pruebas de cumplimiento de supuestos: Prueba de Homogeneidad de Varianzas Univariado (Cochran, Hartley, Bartlett) y gráficamente mediante Plot Box-Whisker; Prueba de normalidad mediante Plot de Residuos.

Se realizó un ANOVA de una vía y Test a posteriori (Tukey HSD para “n” desiguales) con un nivel de significancia < 0.05 .

A continuación se muestran los resultados obtenidos de la corroboración del cumplimiento de los supuestos del ANOVA, tales como la Prueba de Homogeneidad de Varianzas (Fig. 50) y de Normalidad de Residuos (Fig. 51). En la Fig. 50 se observan diferencias significativas entre las medias del contenido de fósforo total fosfolipídico del 1er estadio y los restantes estadios, como así también entre el 2do estadio y el 4to estadio.



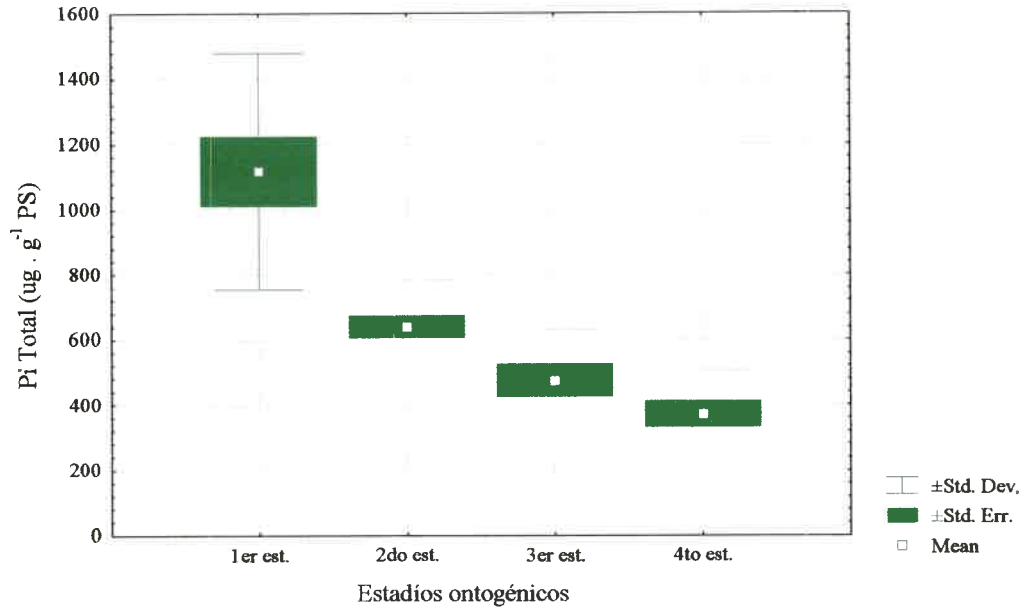


Fig. 50. Plot Box-Whisker del contenido de fósforo total fosfolipídico en estadios controles de la transformación del estolón a tubérculo.

A continuación se presentan la figura de distribución normal de los residuos para el contenido de fósforo total fosfolipídico de cada estadio analizado (Fig. 51). Como puede observarse todos los datos presentan una distribución normal.

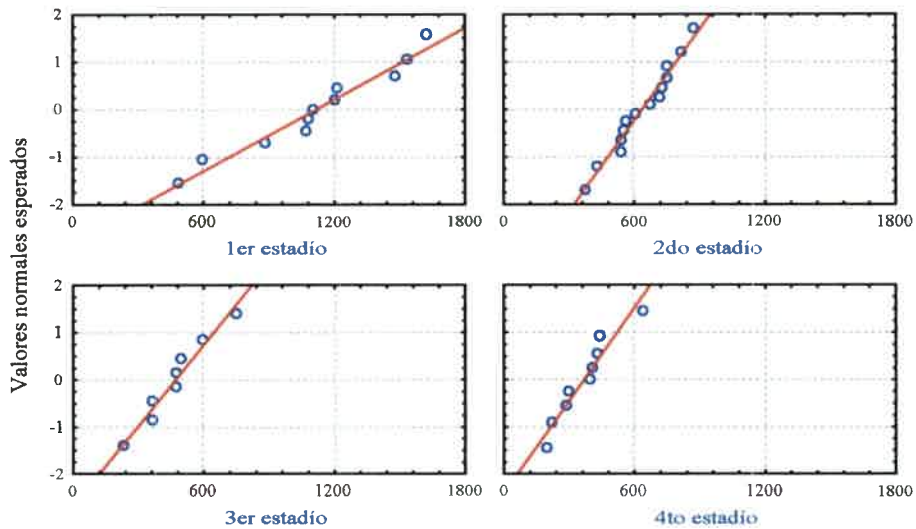
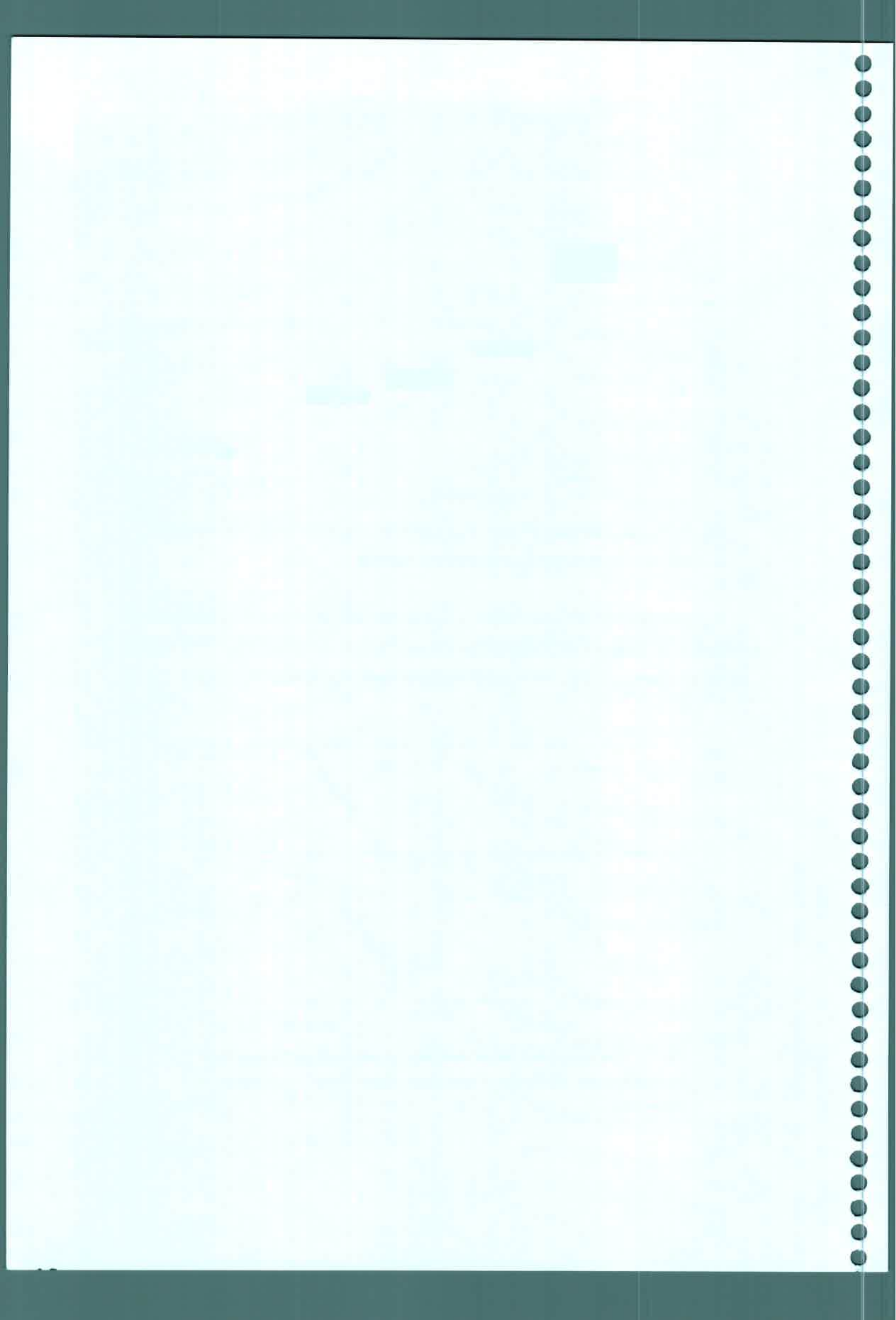


Fig. 51. Plot de normalidad de residuos del contenido de fósforo total fosfolipídico en estadios controles de la transformación del estolón a tubérculo.



3.2. Cuantificación de fósforo presente en fosfolípidos

Para el análisis de cada fosfolípido tras la estimulación hormonal a tejidos del 1er y 2do estadio se realizó un ANOVA / MANOVA, se consideró a los estadios (1er y 2do) y a los tratamientos (C y JA) como variables independientes ó factores, y como variables dependientes a los valores en μg de cada fosfolípido para cada tiempo analizado (0, 7, 15, 30 y 60 min). Aquellos análisis estadísticos con un nivel de $p < 0.05$ se sometieron a Prueba a Posteriori de Tuckey HSD para "n" desiguales tanto para cada factor como para cada tiempo de análisis.

En las leyendas de las figuras presentadas en resultados se detalla el número de experimentos independientes realizados para cada análisis.

A continuación se muestra la homogeneidad de varianzas correspondiente al contenido de PA en estadios controles a lo largo de la ontogenia (Fig. 52).

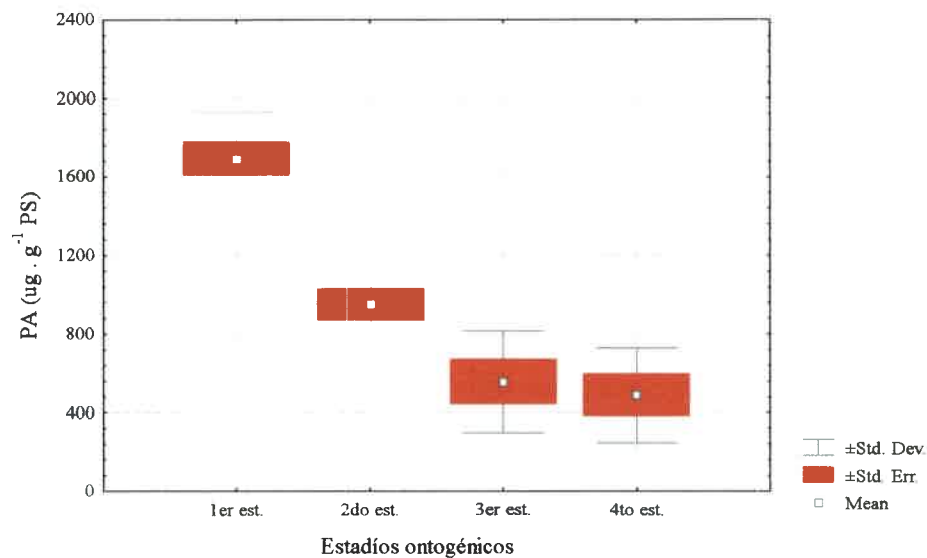
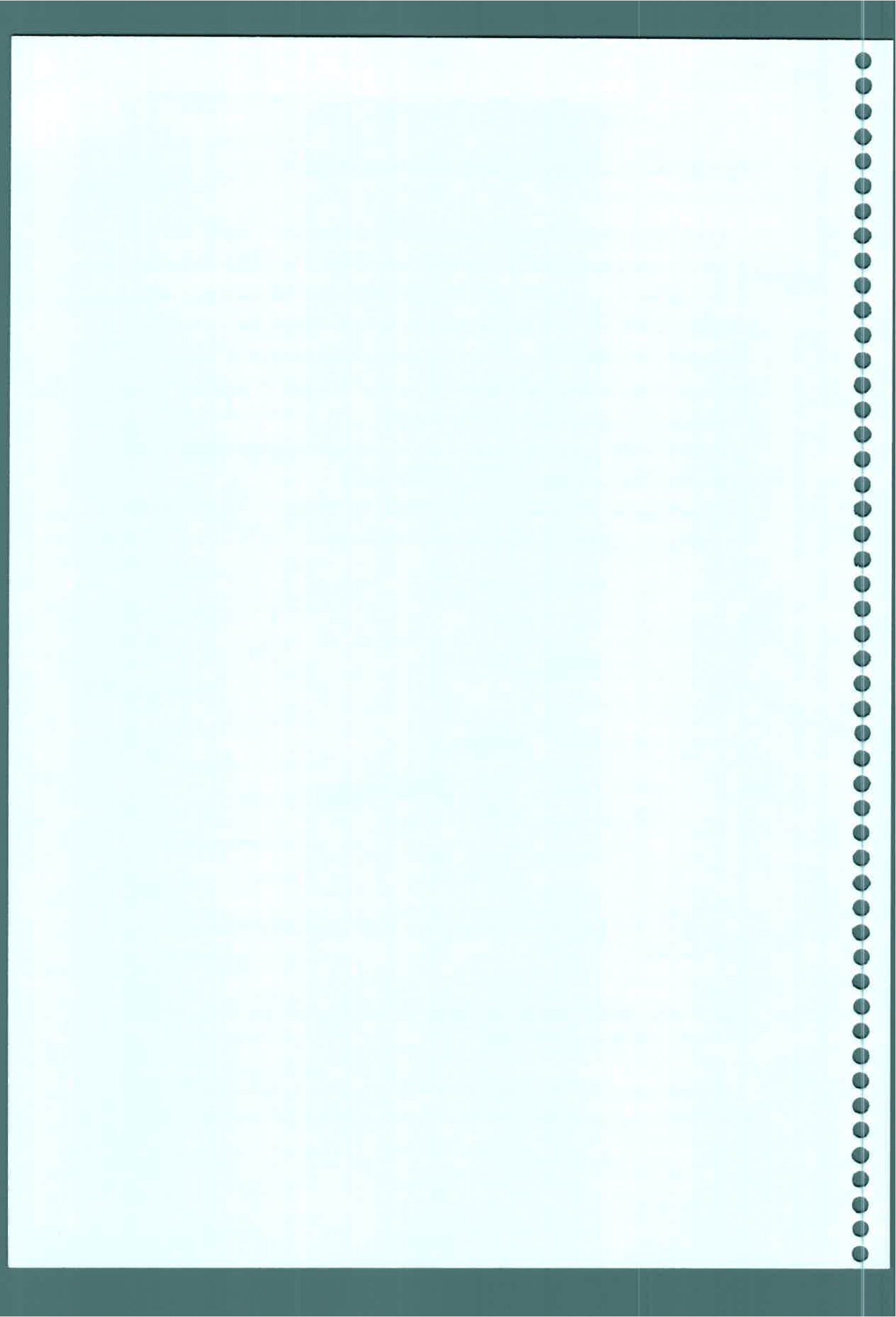


Fig. 52. Plot Box-Whisker del contenido de PA en estadios ontogénicos controles.

3.3. Efecto de JA sobre el contenido de fósforo presente en las diferentes especies fosfolipídicas

Se realizó un ANOVA de dos vías (estadio: 1er y 2do; y tratamiento: C y JA), siendo la variable dependiente los diferentes tiempos de estimulación. A fin de evaluar



en qué tiempos se encontraron diferencias significativas entre los factores analizados, se aplicó el Test a posteriori: Tukey HSD para “n” desiguales, con un nivel de significancia < 0.05 . A continuación se presentan las figuras correspondientes a las especies fosfolípicas que modificaron su contenido por efecto de la estimulación con JA.

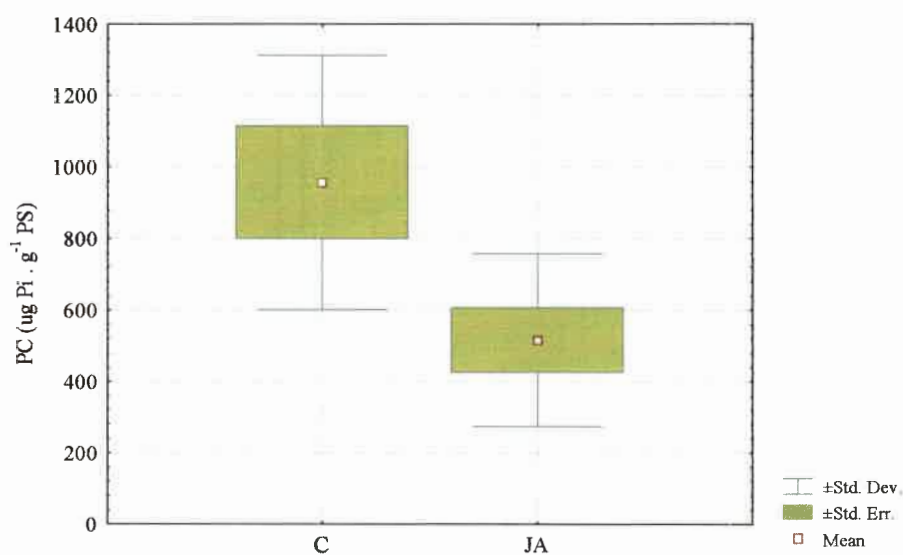


Fig. 53. Plot Box-Whisker del contenido de PC en 1er estadio a los 30 min de la incubación del tejido.

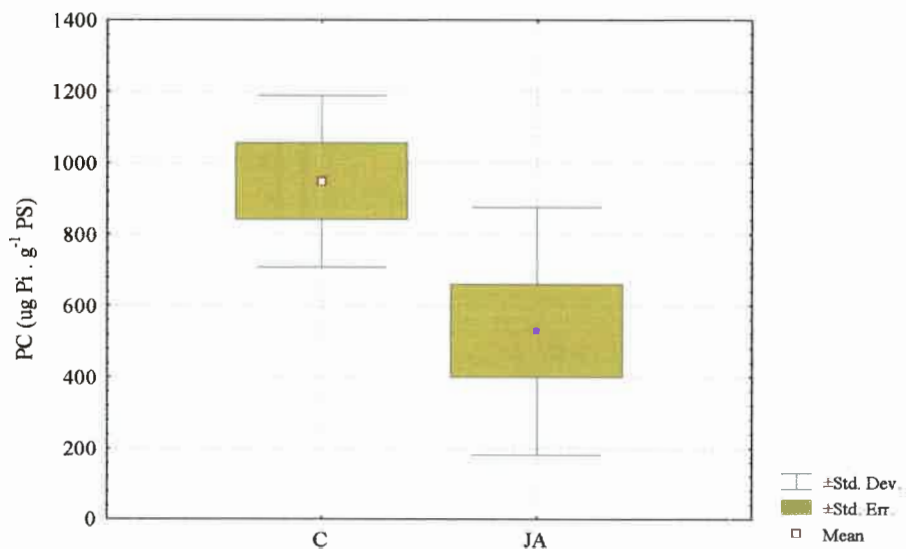


Fig. 54. Plot Box-Whisker del contenido de PC en 1er estadio a los 60 min de la incubación del tejido.



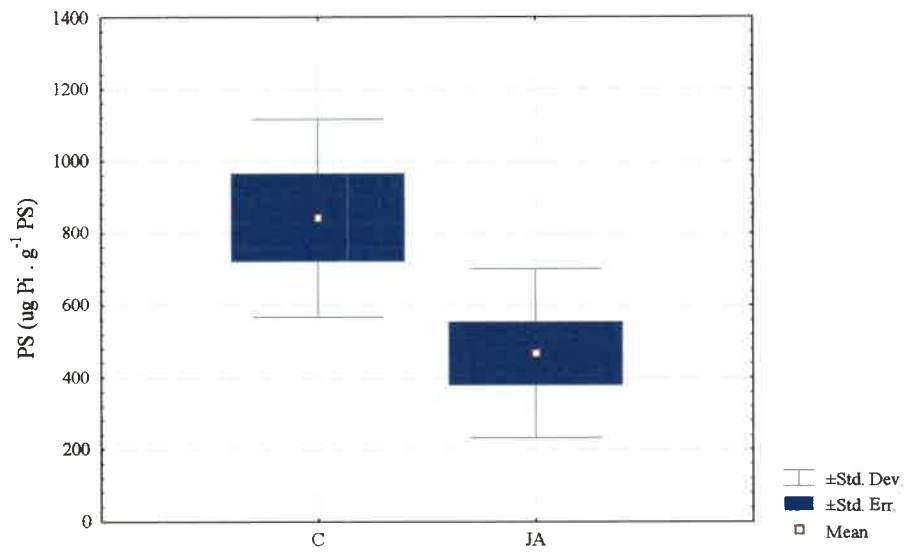


Fig. 55 . Plot Box-Whisker del contenido de PS en 1er estadio a los 30 min de la incubación del tejido.

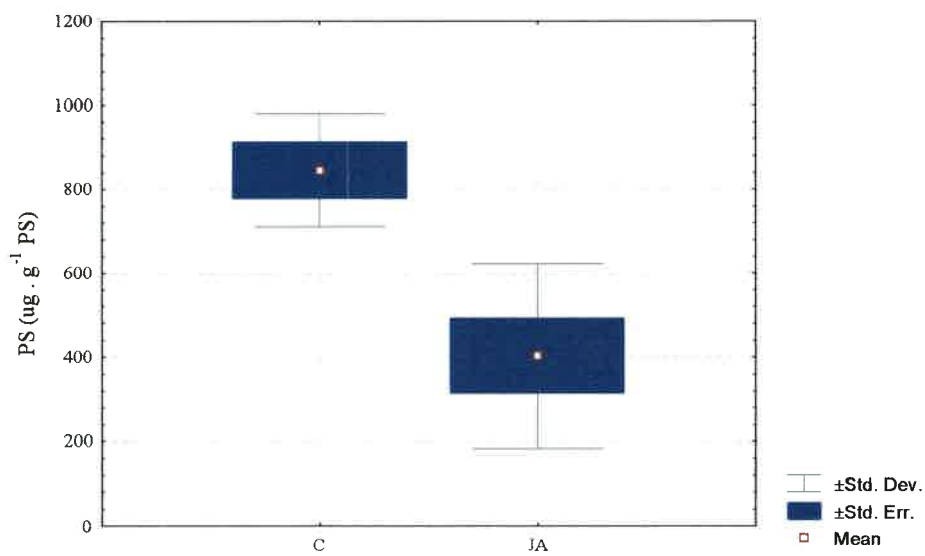


Fig. 56. Plot Box-Whisker del contenido de PS en 1er estadio a los 60 min de la incubación del tejido.



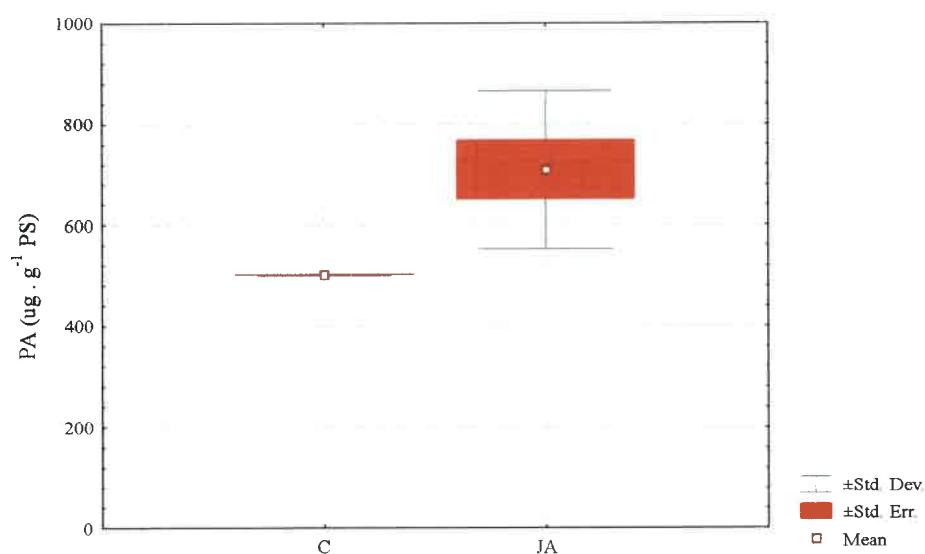


Fig. 57. Plot Box-Whisker del contenido de PA en el 2do estadio control y estimulado con JA durante 30 min.

4. Efecto de JA exógeno a nivel celular

El análisis estadístico se realizó sobre cinco repeticiones y según un diseño completamente aleatorio. Cada repetición correspondió al promedio de diez submuestras de la unidad experimental. La variable dependiente fue el área celular y los factores fueron los tratamientos (control y JA) y zonas (I y II) por cada estadio analizado. Los datos de áreas celulares se sometieron a un Análisis de la Varianza Multifactorial utilizando el Programa *Statgraphics Plus*. Versión 3.1. Por otra parte, a fin de comparar las medias de los tratamientos se realizó un Test de Múltiple Rango (LSD de Fisher).

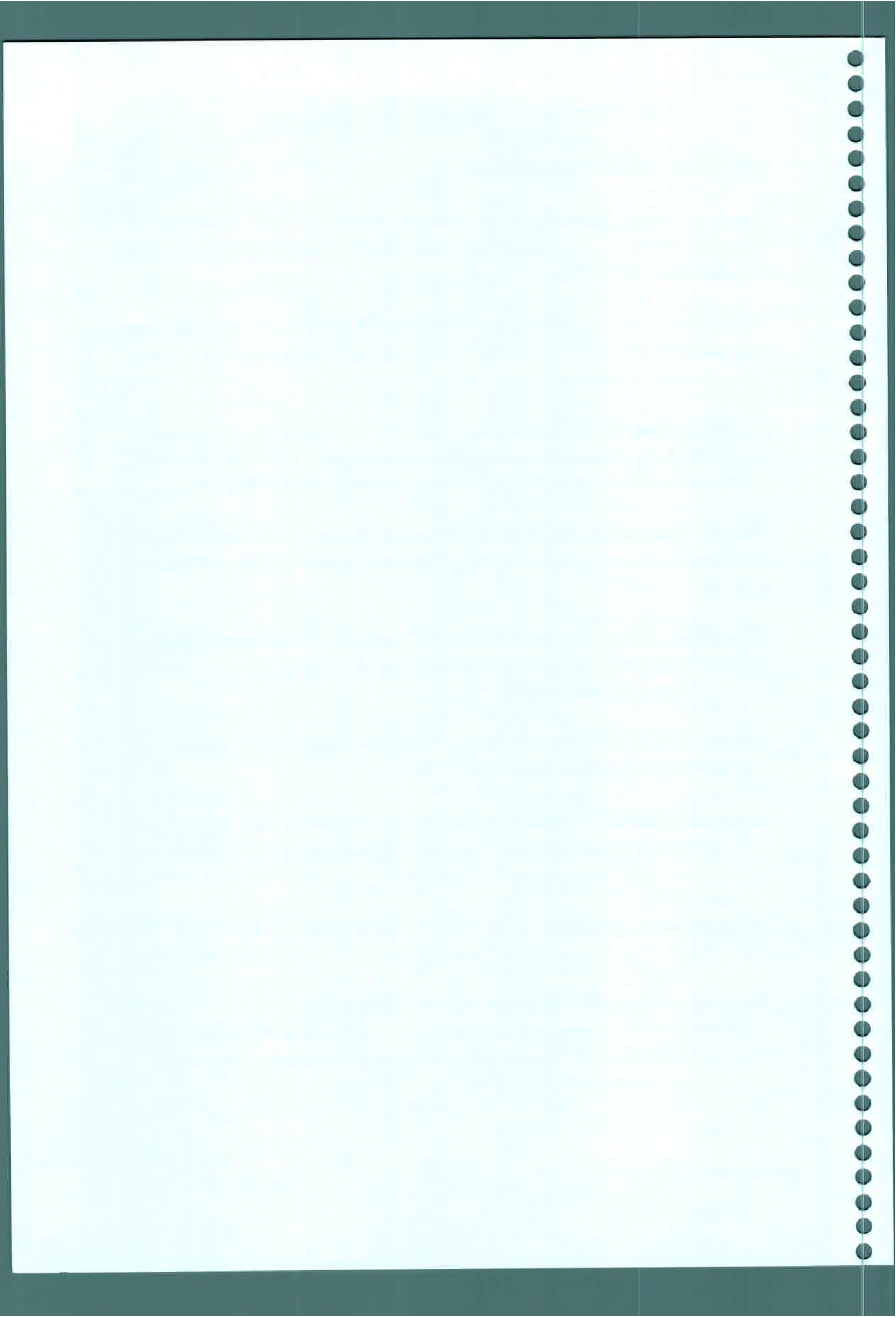


REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

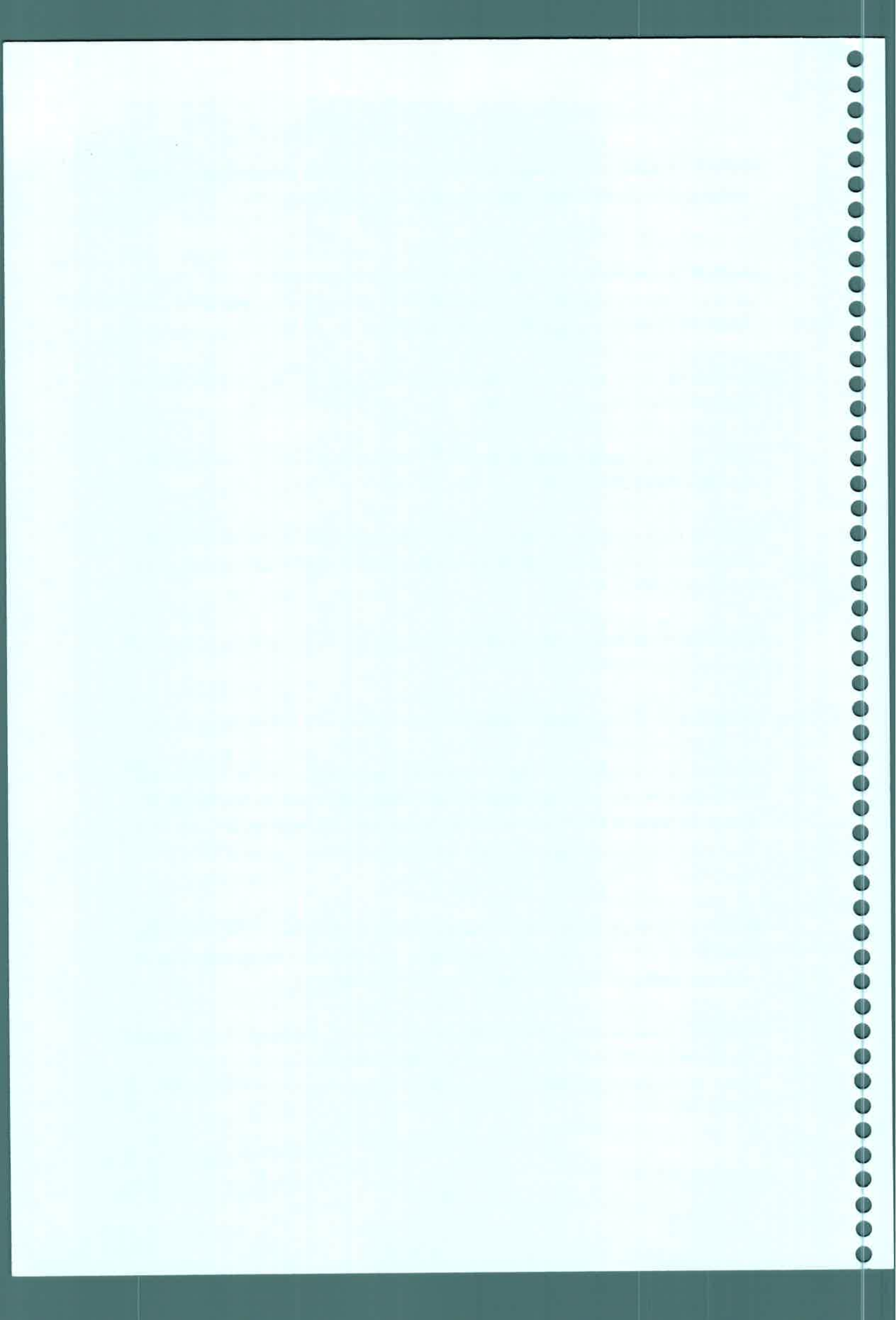
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdala G., Castro G., Guñazú M., Tizio R., Miersch O.** 1996 Occurrence of jasmonic acid in organs of *Solanum tuberosum* L. and its effect on tuberization. *Plant Growth Regul.* 19:139-143
- Abdala G., Castro G., Miersch O., Pearce D.** 2002 Changes in jasmonate and gibberellin levels during development of potato plants (*Solanum tuberosum*). *Plant Growth Regul.* 36:121-126
- Abdala G., Miersch O., Kramell R., Vigliocco A., Agostini E., Forchetti G., Alemano S.** 2003 Jasmonate and octadecanoid occurrence in tomato hairy roots. Endogenous level changes in response to NaCl. *Plant Growth Regul.* 40:21-27
- Abe M., Shibaoka H., Yamane H., Takahashi N.** 1990 Cell cycle-dependent disruption of microtubules by methyl jasmonates in tobacco BY-2-cells. *Protoplasma* 156:1-8
- Abousalham A., Nari J., Teissere M., Ferte N., Noat G., Verger R.** 1997 Study of fatty acid specificity of sunflower phospholipase D using detergent/phospholipid micelles. *Eur. J. Biochem.* 248:374-379
- Aldridge D. C., Galt S., Giles D., Turner W. B.** 1971 Metabolites of *Lasioidiplodia theobromae*. *J. Chem. Soc., Section C* 1623-1627
- Andresen I., Becker W., Schluter K., Burges J., Parthier B., Apel K.** 1992 The identification of leaf thionin as one of the main jasmonate-induced proteins of barley (*Hordeum vulgare*). *Plant Mol. Biol.* 19:193-204
- Austin-Brown S., Chapman K. D.** 2002 Inhibition of phospholipase D by N-acylethanolamines. *Plant Physiol.* 129:1892-1898
- Bafor M., Smith M. A., Jonsson L., Stobart K., Stymne S.** 1993 Biosynthesis of vernoleate (cis-12-epoxyoctadeca-cis-9-enoate) in microsomal preparations from developing endosperm of *Ephorbia lagascae*. *Arch. Biochem. Biophys.* 303:145-151

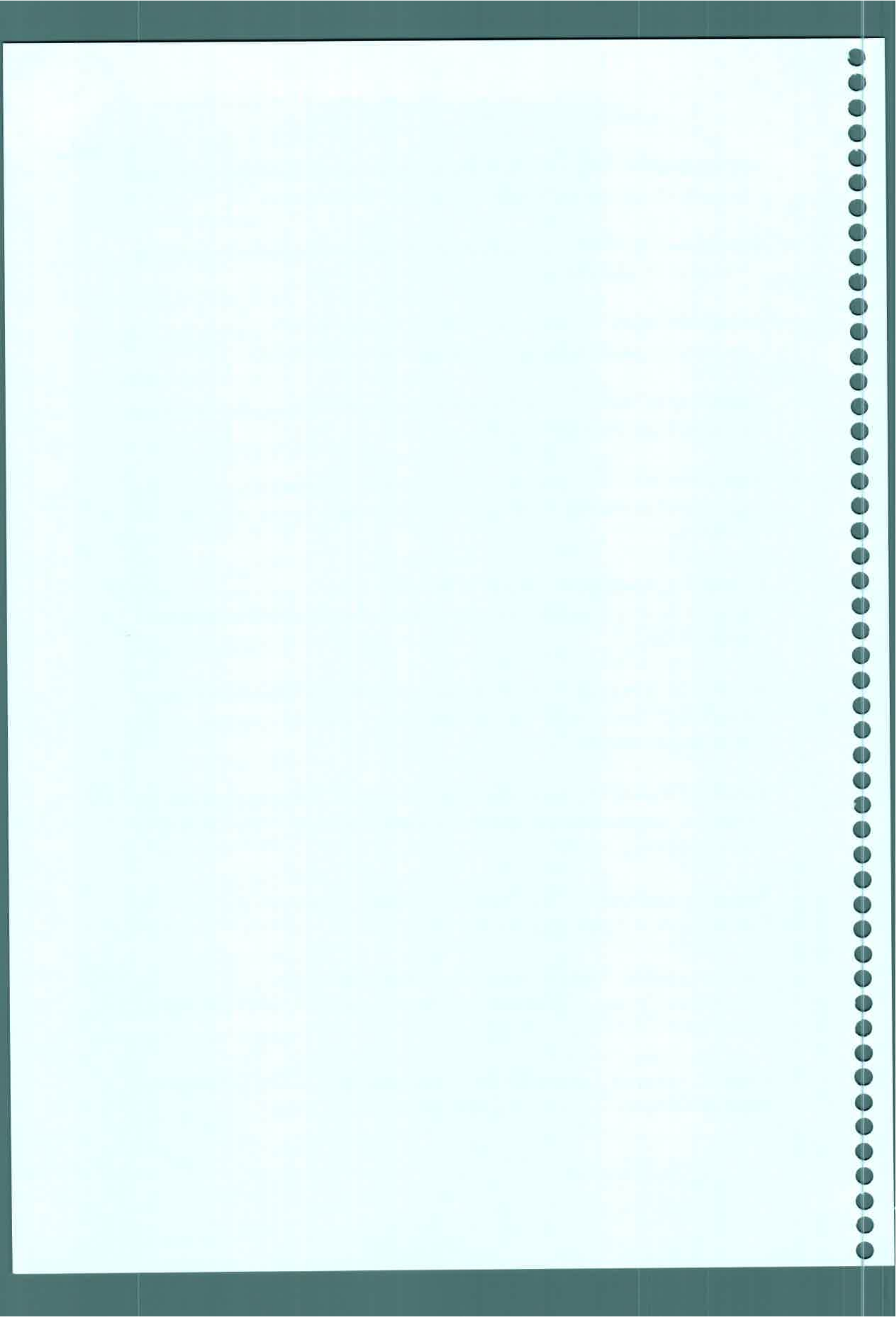


- Banas A., Johansson I., Stymne S.** 1992 Plant microsomal phospholipases exhibit preference for phosphatidylcholine with oxygenated acyl groups. *Plant Sci.* 84:137–144
- Bartels D., Schneider K., Terstappen G., Piatkowski D., Salamini F.** 1990 Molecular cloning of abscisic acid-modulated genes which are induced during desiccation of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Planta* 181:27-34
- Beemster G. T. S., Fiorani F., Inzé D.** 2003 Cell cycle: the key to plant growth control?. *Trends Plant Sci.* 8:154-158
- Berger S.** 2002 Jasmonate-related mutants of Arabidopsis as tools for studying stress signaling. *Planta* 214:497-504
- Bergey D. R., Howe G. A., Ryan C. A.** 1996 Polypeptide signalling for plant defensive genes exhibits analogies to defense signalling in animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:12053-12058
- Beutelmann P., Kende H.** 1977 Membrane lipids in senescing flower tissue of *Ipomoea tricolor*. *Plant Physiol.* 59:888-893
- Bewley J. D.** 1997 Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9:1055-1066
- Birkett M. A., Campbell C. A., Chamberlain K., Guerrieri E., Hick A. J., Martin J. L., Matthes M., Napier J. A., Pettersson J., Pickett J. A., Poppy G. M., Pow E. M., Pye B. J., Smart L. E., Wadhams G. H., Wadhams L. J., Woodcock C. M.** 2000 New roles for cis-jasmone as an insect semio-chemical and in plant defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97:9329-9334
- Blechert S., Brodschelm W., Hölder S., Kammerer L., Kutchan T. M., Xia Z. Q., Zenk M. H.** 1995 The octadecanoid pathway: signal molecules for the regulation of secondary pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:4099-4015
- Blechert S., Bockelmann C., Fülleln M., von Schrader T., Stelmach B. A., Nielsen U., Weiler E. W.** 1999 Structure-activity relationships reveal two sub-groups of active octadecanoids in elicitation of the tendril coiling response of *Bryonia dioica*. *Planta.* 207:470-479

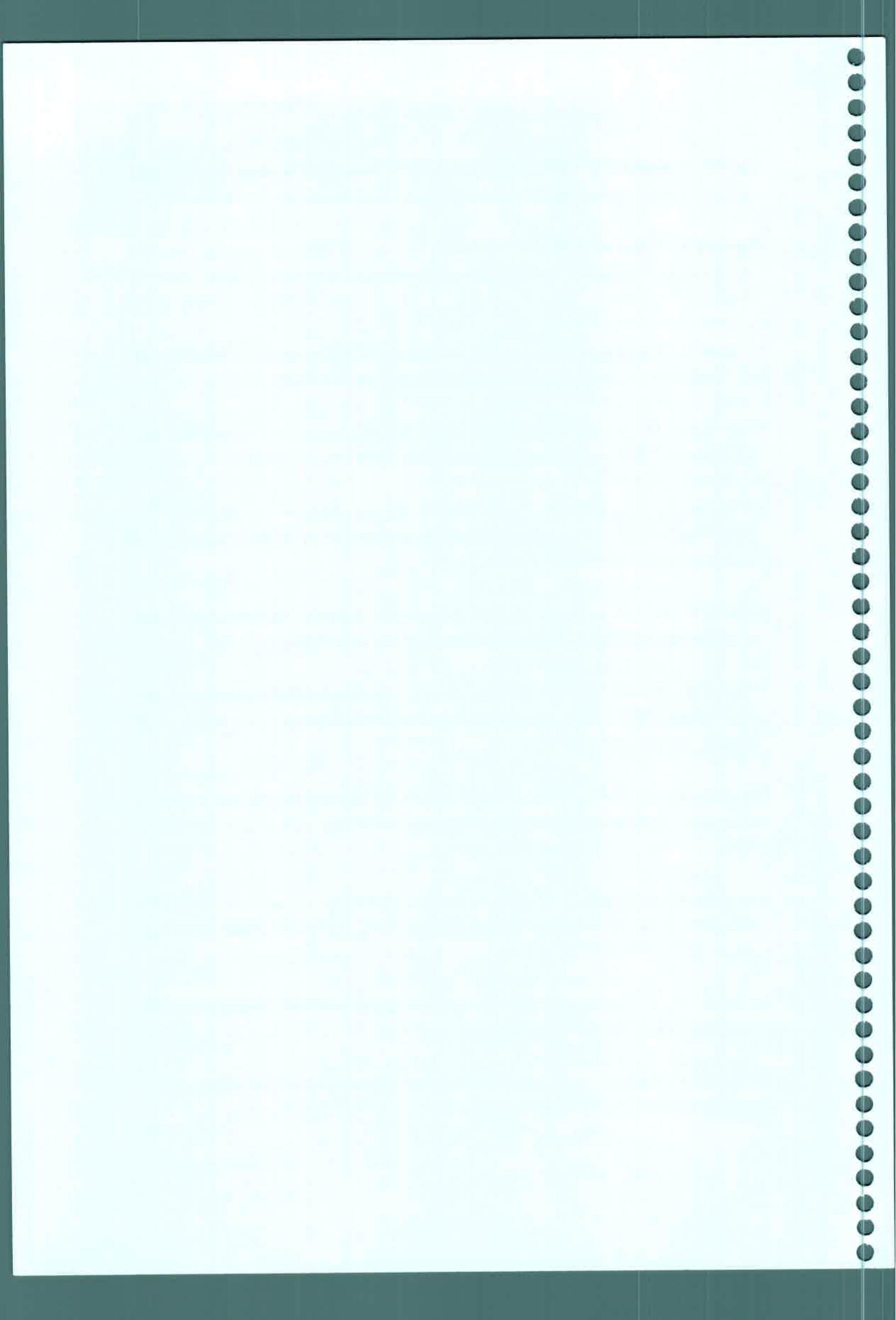




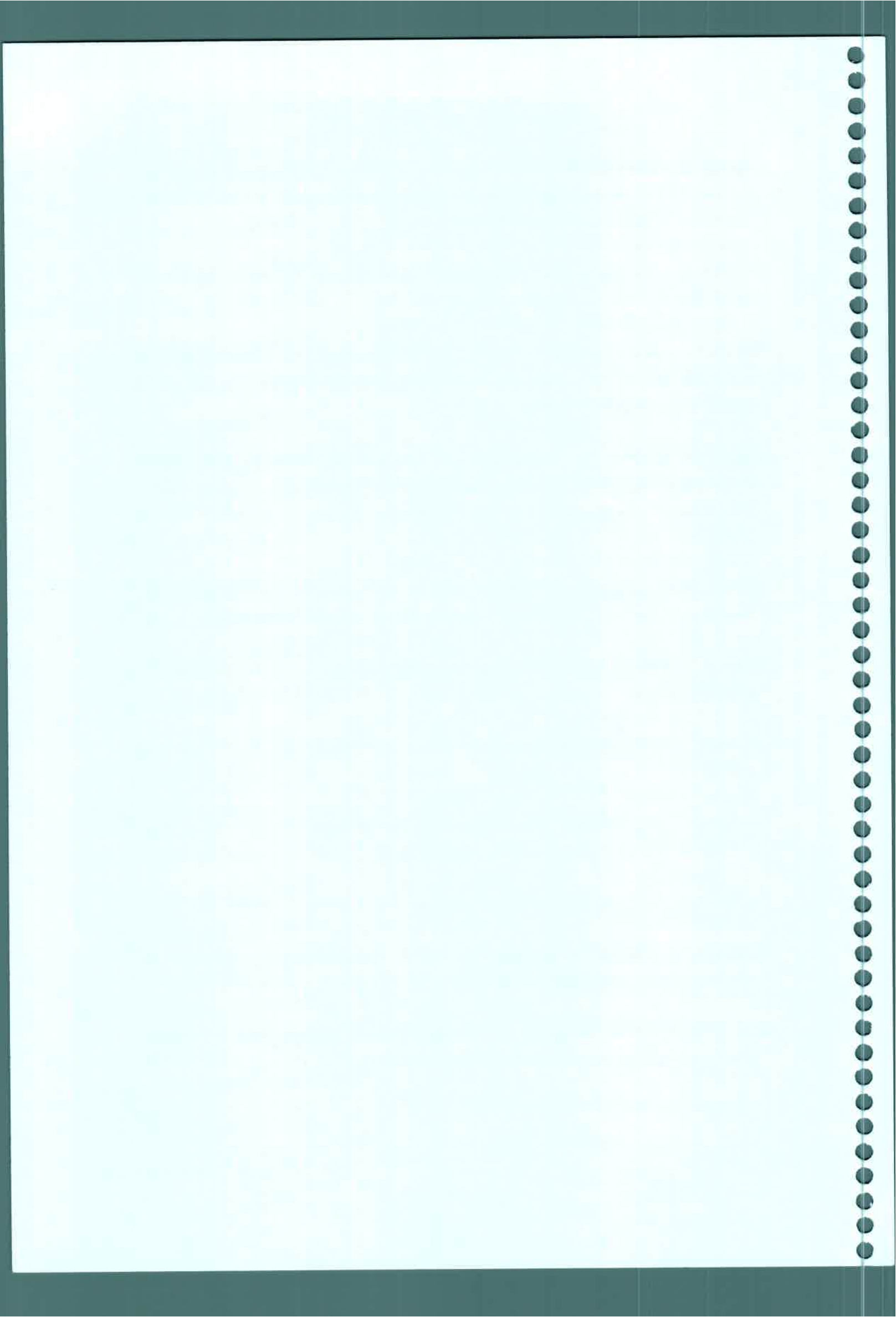
- Blée E., Joyard J.** 1996 Envelope membranes from spinach chloroplasts are a site of the metabolism of fatty acid hydroperoxides. *Plant Physiol.* 110:445-454
- Bligh E., Dyer W.** 1959 A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-918
- Boland W., Hopke J., Donath J., Nüske J., Bublitz F.** 1995 Jasmonsäure und coronatin-induzierte duftproduktion in pflazen. *Angew. Chem.* 107:1715-1717
- Bowman J. L., Eshed Y.** 2000 Formation and maintenance of the shoot apical meristem. *Trends Plant Sci.* 5:110-115
- 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
- Bradley D. J., Kjellbom P., Lamb C. J.** 1992 Elicitor- and wound-induced oxidative cross-linking of a proline-rich plant cell wall protein: a novel, rapid defense response. *Cell* 70:21-30
- Brown J. H., Chambers J. A., Thompson J. E.** 1991 Distinguishable patterns of phospholipid susceptibility to catabolism in senescing carnation petals. *Phytochemistry* 30:2537-2543
- Browse J., Warwick N., Somerville C. R., Slack C. R.** 1986 Fluxes through the prokaryotic and eukaryotic pathways of lipid synthesis in the "16:3" plant *Arabidopsis thaliana*. *Biochem. J.* 235:25-31
- Browse J., Somerville C.** 1991 Glycerolipid synthesis: biochemistry and regulation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42:467-506
- Carrera E., Bou J., Garcia-Martinez J. L., Prat S.** 2000 Changes in GA 20-oxidase gene expression strongly affect stem length, tuber induction and tuber yield of potato plants. *Plant J.* 22:247-256
- Castro G., Kraus T., Abdala G.** 1999 Endogenous jasmonic acid and radial cell expansion in buds of potato tubers. *J. Plant Physiol.* 155:706-710



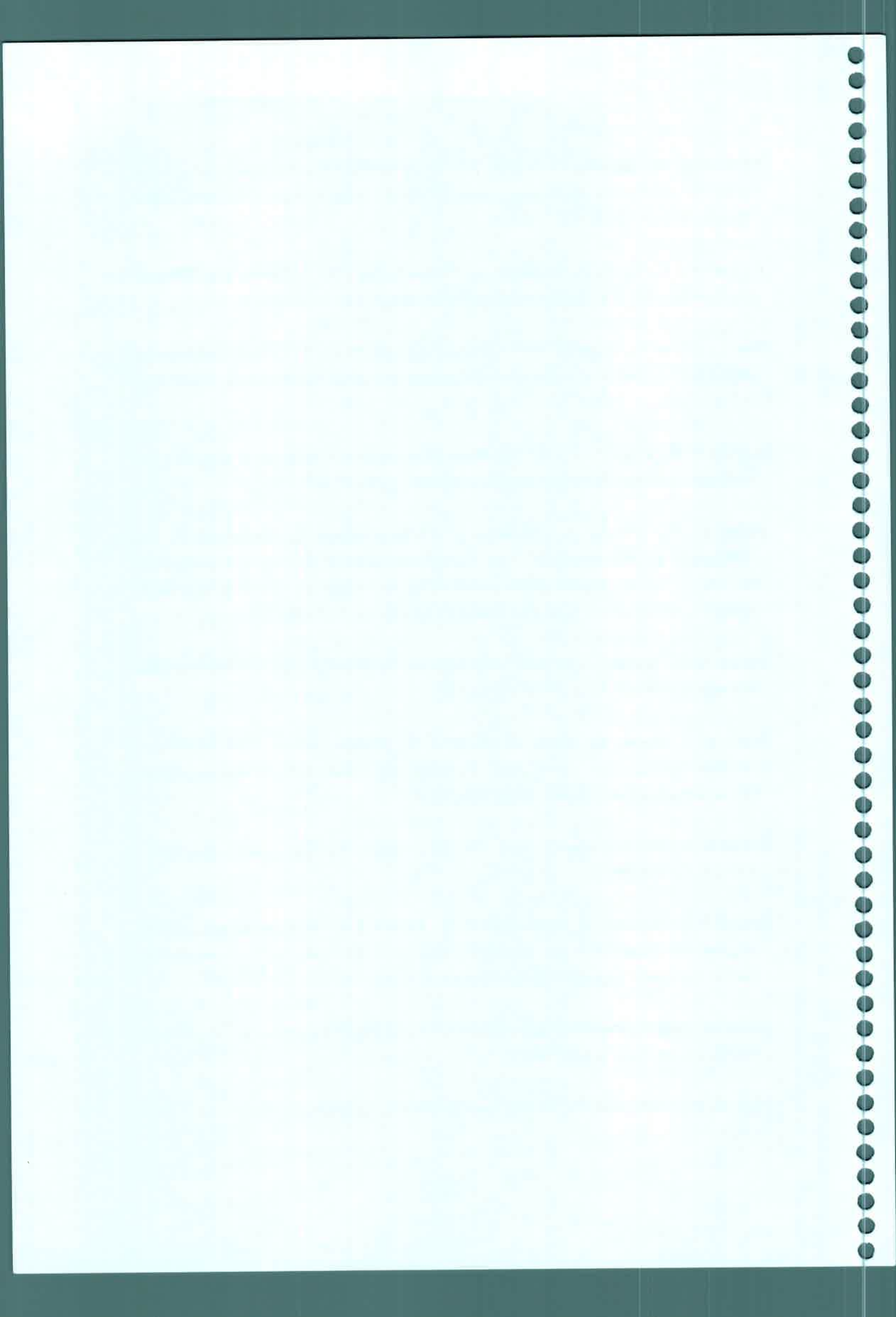
- Castro G., Abdala G., Agüero C., Tizio R.** 2000 Interaction between jasmonic and gibberellic acids on in vitro tuberization of potato plantlets. *Potato Research* 43:83-88
- Cenzano A, Vigliocco A, Kraus T, Abdala G.** 2003 Exogenously Applied Jasmonic Acid Induces Changes in Apical Meristem Morphology of Potato Stolons. *Annals of Botany* 91: 917-921
- Cenzano A, Vigliocco A, Miersch O, Abdala G.** 2004 Octadecanoid levels during stolon to tuber transition in potato. *Potato Research. En revisión final.*
- Chapman K. D.** 1998 Phospholipase activity during plant growth and development and in response to environmental stress. *Trends Plant Sci.* 3:419-426
- Chapman K. D., Tripathy S., Venables B. J., Desouza A. D.** 1998 N-Acylethanolamine: formation and molecular composition of a new class of plant phospholipids. *Plant Physiol.* 116:1163-1172
- Collings D. A., Emons A. M. C.** 1999 Microtubule and actin filament organization during acentral divisions in potato suspension culture cells. *Protoplasma* 207:158-168
- Conconi A., Miquel M., Browse J. A., Ryan C. A.** 1996 Intracellular levels of free linolenic and linoleic acids increase in tomato leaves in response to wounding. *Plant Physiol.* 111:797-803
- Creelman R. A., Tierney M. L., Mullet J. E.** 1992 Jasmonic acid/methyl jasmonate accumulate in wounded soybean hypocotyls and modulate wound gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:4938-4941
- Creelman R. A., Mullet J. E.** 1995 Jasmonic acid distribution and action in plants: Regulation during development and response to biotic and abiotic stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:4114-4119
- Creelman R. A., Mullet J.E.** 1997 Biosynthesis and actions of jasmonates in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:355-381
- Cristel C. C., Fletcher J. C.** 2003 Shoot apical meristem maintenance: the art of a dynamic balance. *Trends Plant Sci.* 8:394-401



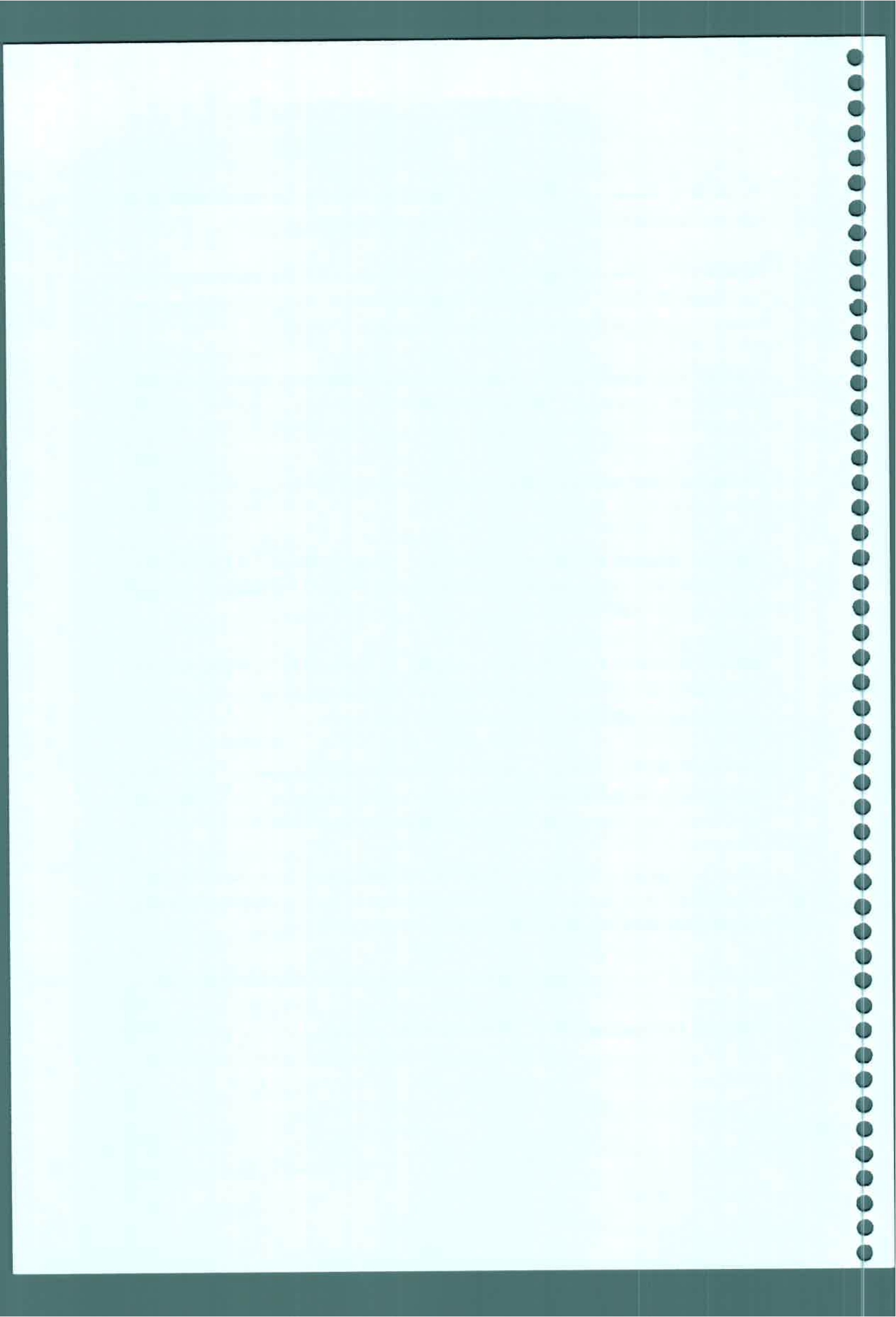
- Czapski J., Saniewski M.** 1992 Stimulation of ethylene production and ethylene-forming enzyme in fruits of the non-ripening nor and rin tomato mutants by methyl jasmonate. *J. Plant Physiol.* 139:265–268
- D' Ambrogio de Argüeso A.** 1986 Manual de técnicas en histología vegetal. Ed. Hemisferio Sur, Bs. As., Argentina 1:5-12
- Demole E., Lederer E., Mercier D.** 1962 Isolement et détermination de la structure du jasmonate de méthyle, constituant odorant caractéristique de l'essence de jacin. *Helvet. Chim. Acta* 45:675-685
- Dhondt S., Geoffroy P., Stelmach B. A., Legrand M., Heitz T.** 2000 Soluble phospholipase A₂ activity is induced before oxylipin accumulation in tobacco mosaic virus-infected tobacco leaves and is contributed by patatin-like enzymes. *Plant J.* 23:431-440
- Dizeo de Strittmatter C.** 1979 Modificación de una coloración safranina-fast green. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica.* Bs. As., Argentina 18:121-122
- Dodge J. T., Phillips, G. B.** 1967 Composition of phospholipids and phospholipid fatty acids and aldehydes in human red cells. *J. Lipids Res.* 8:667-675
- Doonan J.** 2000 Social controls on cell proliferation in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3:482-487
- Dowhan W.** 1997 Molecular basis for membrane phospholipid diversity: why are there so many lipids?. *Annu. Rev. Biochem.* 66:199-232
- Drøbak B. K.** 1992 The plant phosphoinositide system. *Biochem J.* 288:697-712
- Drøbak B. K., Dewey R. E., Boss W. F.** 1999 Phosphoinositide kinase and the synthesis of polyphosphoinositide in higher plant cells. *Int. Rev. Cytol.* 189: 95–130
- Dyer J. H., Ryu S. B., Wang X.** 1994 Multiple forms of phospholipase D following germination and during leaf development of castor bean. *Plant Physiol.* 105: 715–724



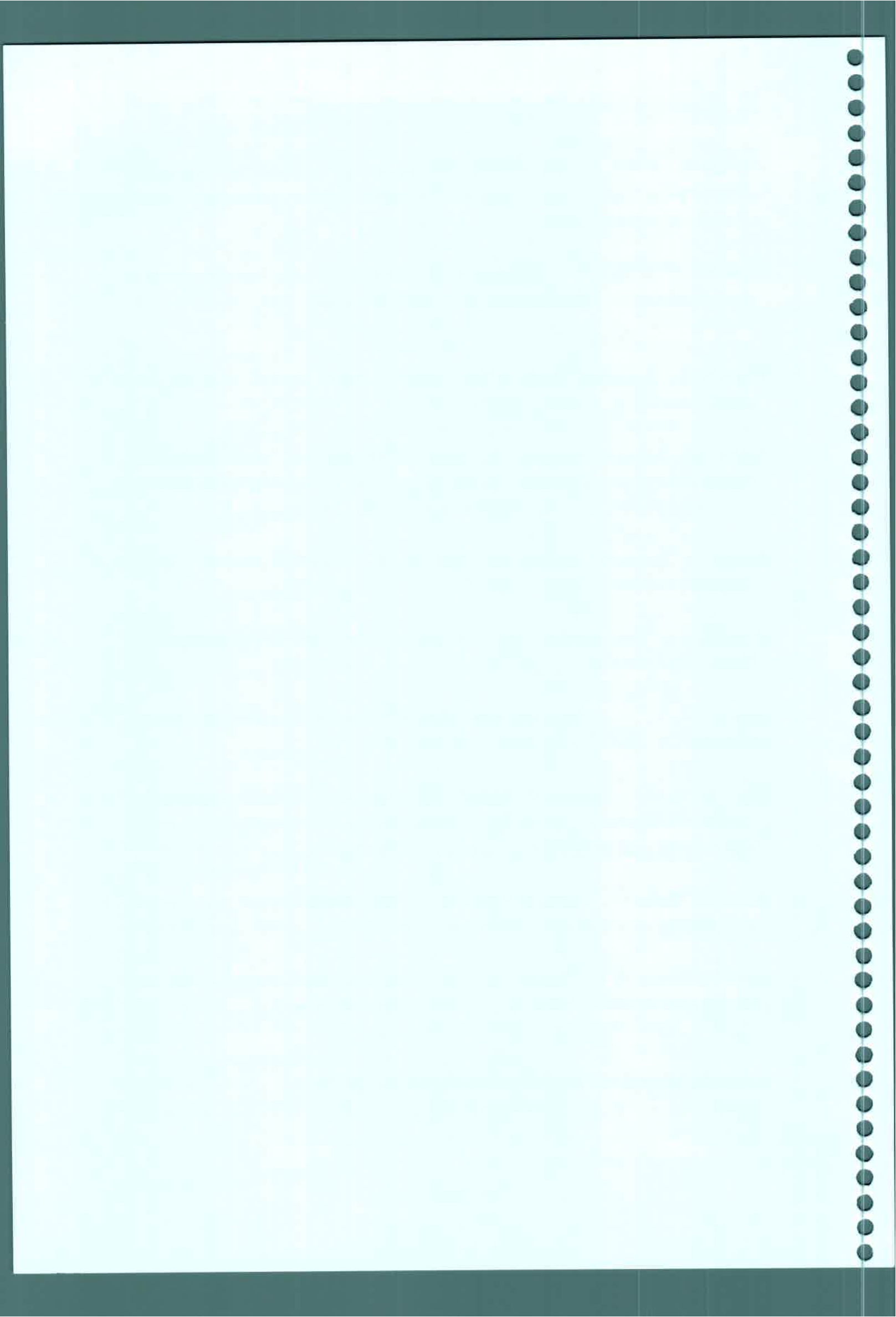
- Ellard-Ivey M., Douglas C. J.** 1996 Role of jasmonates in the elicitor- and wound-inducible expression of defense genes in parsley and transgenic tobacco. *Plant Physiol.* 112:183-192
- Falkenstein E., Groth B., Mithofer A., Weiler E. W.** 1991 Methyljasmonate and α -linolenic acid are potent inducers of tendril coiling. *Planta* 185:316–322
- Fan L., Zheng S., Wang X.** 1997 Antisense suppression of PLD retards abscisic acid and ethylene-promoted senescence in postharvest *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell* 9:2183-2196
- Farmer E. E., Ryan C. A.** 1992 Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. *Plant Cell* 4:129-134
- Farré E. M., Tiessen A., Roessner U., Geigenberger P., Trethewey R. N., Willmitzer L.** 2001 Analysis of the compartmentation of glycolytic intermediates, nucleotides, sugars, organic acids, amino acids, and sugar alcohols in potato tubers using a nonaqueous fractionation method. *Plant Physiol.* 127: 685-700
- Fernie A. R., Willmitzer L.** 2001 Molecular and biochemical triggers of potato tuber development. *Plant Physiol.* 127:1459-1465
- Feussner I., Hause B., Vörös K., Parthier B., Wasternack C.** 1995 Jasmonate-induced lipoxygenase forms are localized in chloroplast of barley leaves (*Hordeumvulgare* cv. *Salome*). *Plant J.* 7:949–957
- Feussner I., Wasternack C.** 2002 The lipoxygenase pathway. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 53: 275-297
- Feys B. J. F., Benedetti C. E., Penfold C. N., Turner J. G.** 1994 *Arabidopsis* mutants selected for resistance to the phytotoxin coronatine are male sterile, insensitive to methyl jasmonate, and resistant to a bacterial pathogen. *Plant Cell* 6:751–759
- Finlay M. Dale B., Bradshaw J. E.** 2003 Progress in improving processing attributes in potato. *Trends Plant Sci.* 8:310-312
- Fiske G. H., Subbarow J.** 1925 The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* 66:375-400



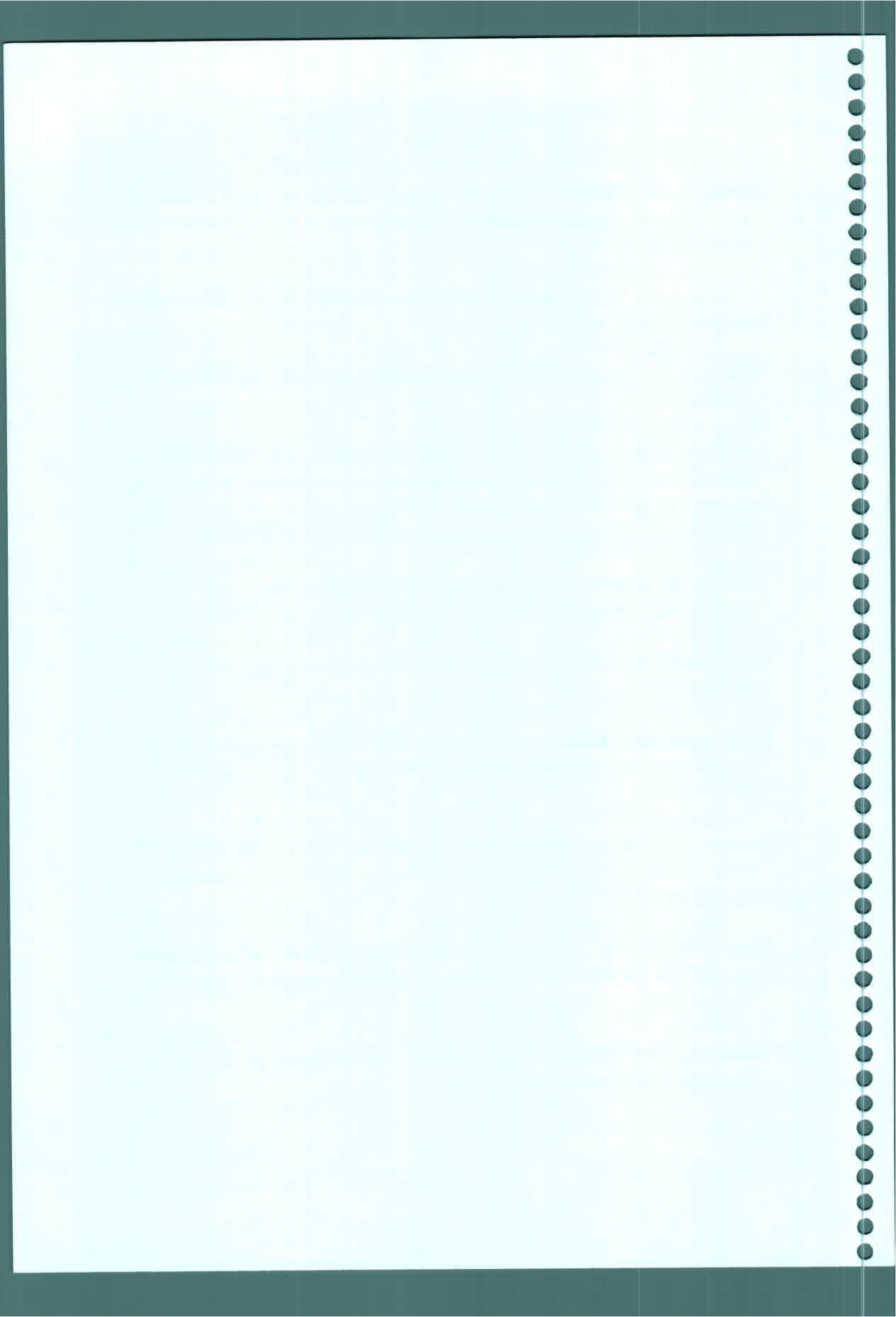
- Fornaroli S., Petrusa E., Braidot E., Vianello A., Marci F.** 1999 Purification of a plasma membrane-bound lipoxygenase from soybean cotyledons. *Plant Sci.* 145:1-10
- Froehlich J. E., Itoh A., Howe G. A.** 2001 Tomato allene oxide synthase and fatty acid hydroperoxide lyase, two cytochrome P450s involved in oxylipin metabolism, are targeted to different membranes of chloroplast envelope. *Plant Physiol.* 125:306-317
- Gardiner J. C., Harper J. D. I., Weerakoon N. D., Collings D. A., Ritchie S., Gilroy S., Cyr R. J., Marc J.** 2001 A 90-kD phospholipase D from tobacco binds to microtubules and the plasma membrane. *Plant Cell* 13:2143-2158
- Gardner H.** 1995 Biological roles and biochemistry of the lipoxygenase pathway. *HortScience* 30:197-205
- Gawer M., Norberg P., Chervin D., Guern N., Yaniv Z., Mazliak P., Kader J.C.** 1999 Phosphoinositides and stress-induced changes in lipid metabolism of tobacco cells. *Plant Sci.* 141:117-127
- Gidda S. K., Miersch O., Levitin A., Schmidt J., Wasternack C., Varin L.** 2003 Biochemical and molecular characterization of a hydroxyjasmonate sulfotransferase from *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 278:17895-17900
- Giddings T. H., Jr., Staehelin L. A.** 1991 Microtubule-mediated control of microfibril deposition: A re-examination of the hypothesis. In: *The cytoskeletal basis of the plant growth and form*. Lloyd C. W., ed., London, Academic Press, 85-99
- Göbel C., Feussner I., Schmidt A., Scheel D., Sanchez-Serrano J. J., Rosahl S.** 2001 Oxylipin profiling reveals the preferential stimulation of the 9-lipoxygenase pathway in elicitor-treated potato cells. *J. Biol. Chem.* 276:6267-6273
- Gregory L. E.** 1956 Some factors for tuberization in the potato. *Ann. Bot.* 41:281-288
- Grimes H. D., Tranberger T. J., Franceschi V. R.** 1993 Expression and accumulation patterns of nitrogen-responsive lipoxygenase in soybeans. *Plant Physiol.* 103:457-466



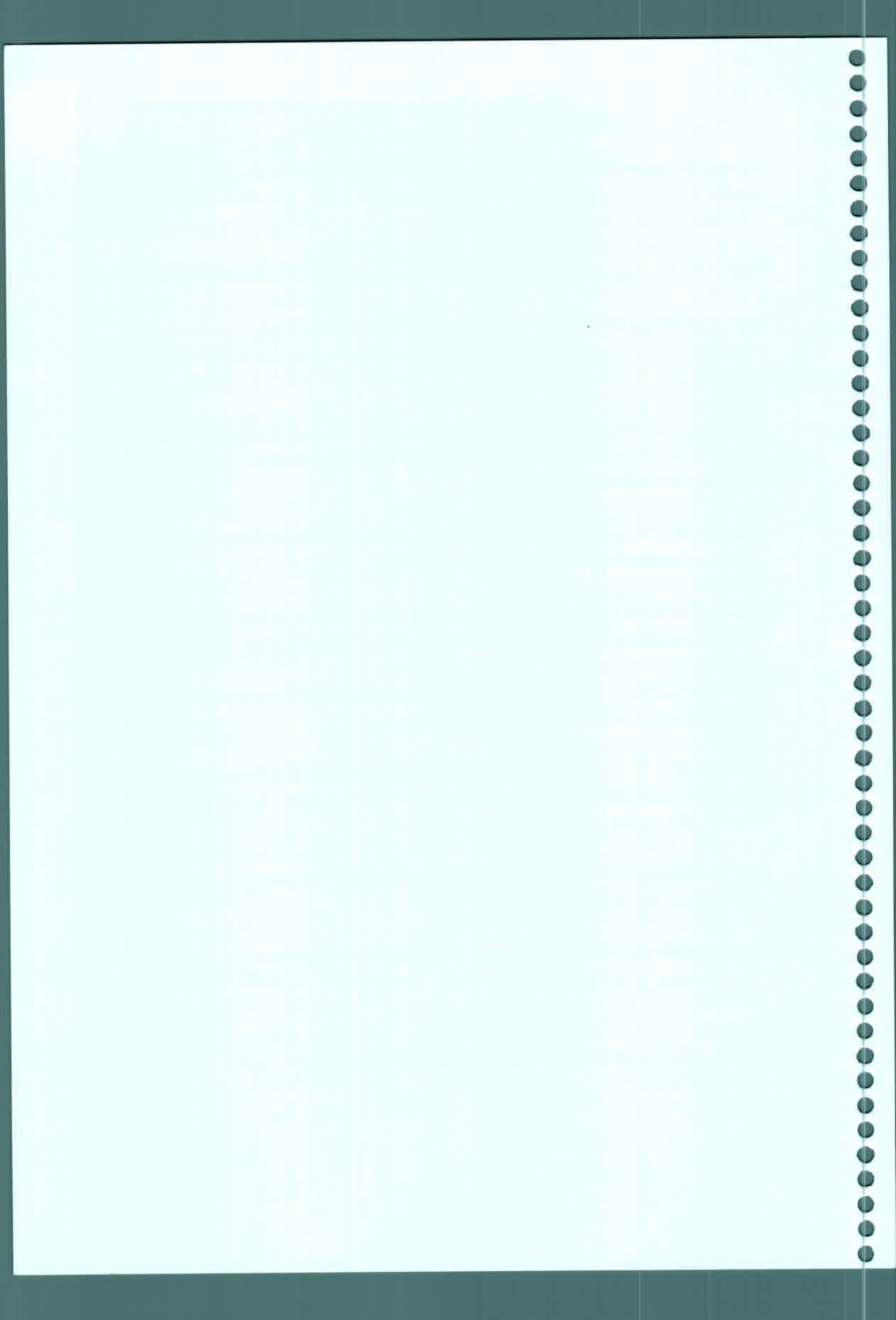
- Guiñazú M., Abdala G., Tizio R.** 1988 Effect of free and conjugated gibberellins on roots of potato cuttings treated with CCC in relation to tuber formation. *J. Plant Physiol.* 132:725-730
- Gundlach H., Müller M. J., Kutchan T. M., Zenk M. H.** 1992 Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:2389-2393
- Hable W. E., Bisgrove S. R., Kropf D. L.** 1998 To shape a plant-the cytoskeleton in plant morphogenesis. *Plant Cell* 10:1772-1774
- Hagio M., Sakurai I., Sato S., Kato T., Tabata S., Wada H.** 2002 Phosphatidylglycerol is essential for the development of thylakoid membranes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 43:1456-1464
- Harris N., Oparka K. J.** 1994 *Plant Cell Biology: A practical approach.* Oxford University Press Inc., Oxford
- Harwood J. L.** 1996 Recent advances in the biosynthesis of plant fatty acids. *Biochem. Biophys. Acta* 1301:7-56
- Harwood J. L.** 1997 Plant lipid metabolism. In: *Plant Biochemistry.* Dey P. M., Harborne J. B., eds. Academic Press, USA. 237-272
- Hause B., Stenzel I., Miersch O., Maucher H., Kramell R., Ziegler J., Wasternack C.** 2000 Tissue-specific oxylipin signature of tomato flowers: Allene oxide cyclase is highly expressed in distinct flower organs and vascular bundles. *Plant J.* 24:113-126
- Hause B., Hause G., Kutter C., Miersch O., Wasternack C.** 2003 Enzymes of jasmonate biosynthesis occur in tomato sieve elements. *Plant Cell Physiol.* 44:643-648
- Heitz T., Bergey D. R., Ryan C. A.** 1997 A gene encoding a chloroplast-targeted lipoxygenase in tomato leaves is transiently induced by wounding, systemin, and methyl jasmonate. *Plant Physiol.* 114:1085-1093
- Helder H., Miersch O., Vreugdenhil, Sembdner G.** 1993 Occurrence of hydroxylated jasmonic acids in leaflets of *Solanum demissum* plants grown under long- and short-days conditions. *Physiol. Plant.* 88:647-653



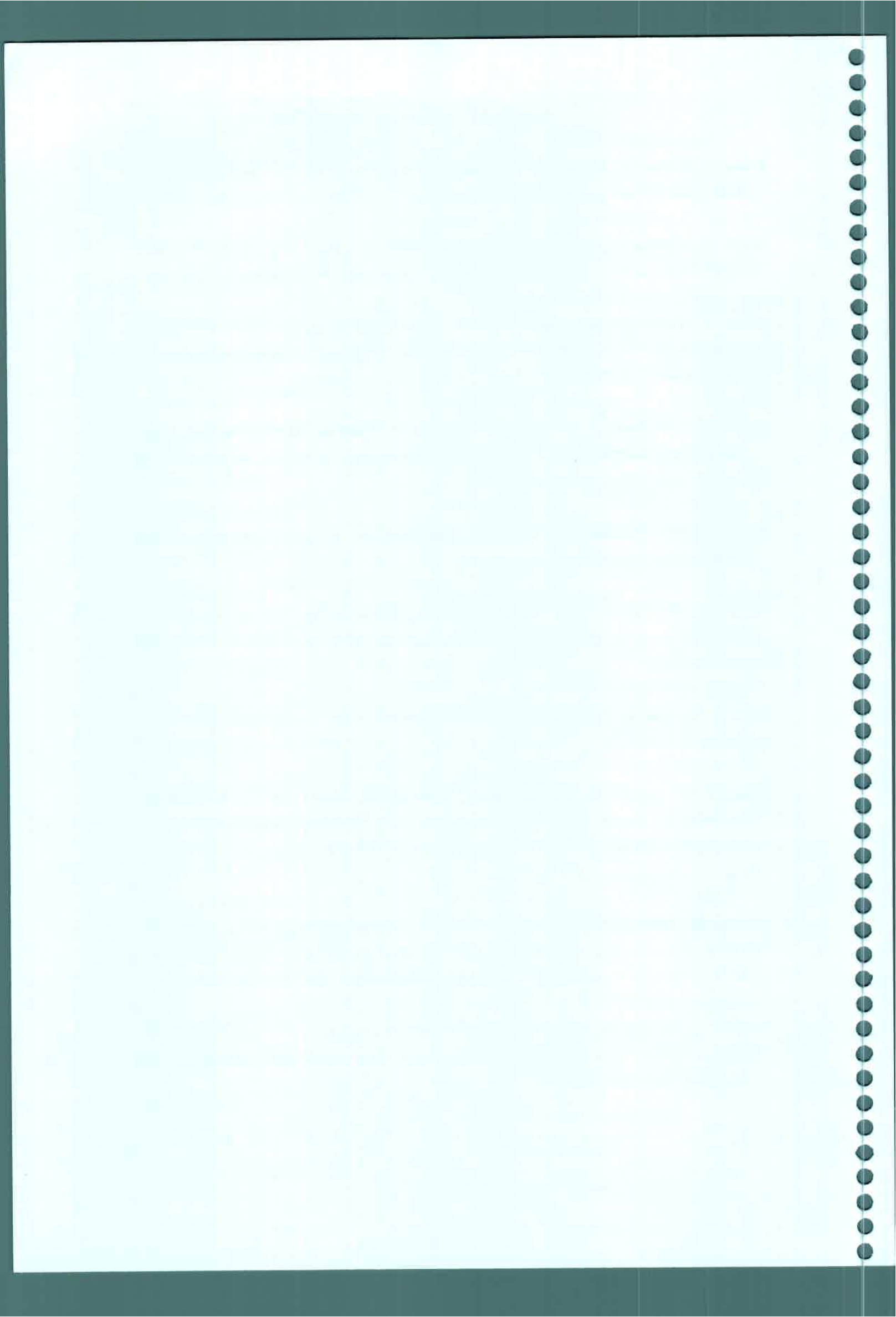
- Herman E. M., Chrispeels M. J.** 1980 Characteristic and subcellular location of phospholipase D and phosphatidic acid phosphatase in mung bean cotyledons. *Plant Physiol.* 66:1001-1007
- Hetherington A. M., Drøbak B. K.** 1992 Inositol-containing lipids in higher plants. *Prog. Lipid Res.* 31:53-63
- Hijmans R. J., Spooner D. M.** 2001 Geographic distribution of wild potato species. *Am. J. of Bot.* 88:2101-2112
- Ishiguro S., Kawai-Oda A., Ueda J., Nishida I., Okada K.** 2001 The defective in anther dehiscence1 gene encodes a novel phospholipase A1 catalyzing the initial step of jasmonic acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation, anther dehiscence, and flower opening in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 13:2191-2209
- Jackson S. D., James P., Prat S., Thomas B.** 1998 Phytochrome B affects the levels of a graft-transmissible signal involved in tuberization. *Plant Physiol.* 117:29-32
- Jackson S. D.** 1999 Multiple signaling pathways control tuber induction in Potato. *Plant Physiol.* 119:1-8
- Jacob T., Ritchie S., Assmann S. M., Gilroy S.** 1999 Abscisic acid signal transduction in guard cells is mediated by phospholipase D activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96:12192-12197
- Joyard J., Block M. A., Douce, R., Browse J., Warwick N., Somerville C. R., Slack C. R.** 1991 Molecular aspects of plastid envelope biochemistry. *Eur. J. Biochem.* 199:489-509
- Jung K. M., Kim D. K.** 2000 Purification and characterization of a membrane-associated 48-kilodalton phospholipase A₂ in leaves of broad bean. *Plant Physiol.* 123:1057-1068
- Jürgens G.** 2003 Growing up green: cellular basis of the plant development. *Mechanisms of Development* 120:1395-1406



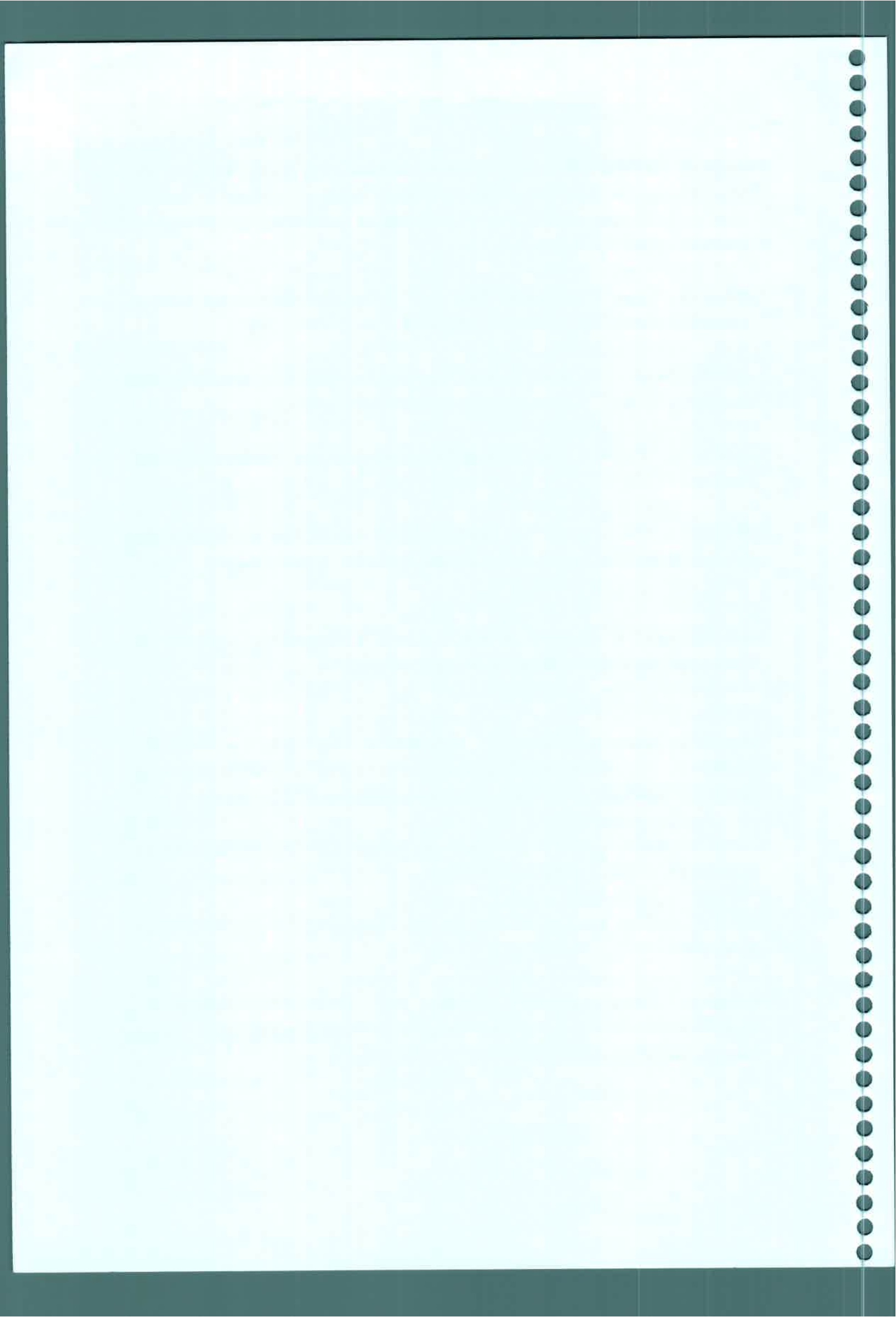
- Karban R., Baldwin I. T., Baxter K. J., Laue G.** 2000 Communication between plants: induced resistance in wild tobacco plants following clipping of neighboring sagebrush. *Oecologia* 125:66-71
- Kent C.** 1995 Eukaryotic phospholipid biosynthesis. *Annu. Rev. Biochem.* 64:315-343
- Kent C., Carman G. M.** 1999 Interactions among pathways for phosphatidylcholine metabolism, CTP synthesis and secretion through the Golgi apparatus. *Trends Biochem. Sci.* 24:146-50
- Kirchner J. G.** 1978 Detection of colorless compounds. In: *Techniques of Chemistry Vol. XIV Thin Layer Chromatography*. Weissberger A., ed., 2nd edition, USA, Wiley-Interscience Publishers. 193-264
- Koda Y.** 1982 Changes in the levels of butanol-and water-soluble cytokinins during the life cycle of potato tubers. *Plant Cell Physiol.* 23:843
- Koda Y. Okazawa Y.** 1983 Characteristic changes in the levels of endogenous plant hormones in relation to the onset of potato tuberization. *Jpn. J. Crop Sci.* 52 :592-597
- Koda Y., Okazawa Y.** 1988 Detection of potato tuber-inducing activity in potato leaves and old tubers. *Plant Cell Physiol.* 29:969-974
- Koda Y., Omer E. A., Yoshihara T., Shibata H., Sakamura S., Okazawa Y.** 1988 Isolation of a specific potato tuber-inducing substance from potato leaves. *Plant Cell Physiol.* 29:969-974
- Koda Y., Kikuta Y.** 1991 Possible involvement of jasmonic acid in tuberization in yam plants. *Plant Cell Physiol.* 32:629-633
- Koda Y., Kikuta Y., Tazaki H., Tsujino Y., Sakamura S., Yoshihara T.** 1991 Potato tuber-inducing activities of jasmonic acid and related compounds. *Phytochem.* 40:1435-1438
- Koda Y.** 1992 The rol of jasmonic acid and related compounds in the regulation of plant development. *Int. Rev. Cytol.* 135:155-199



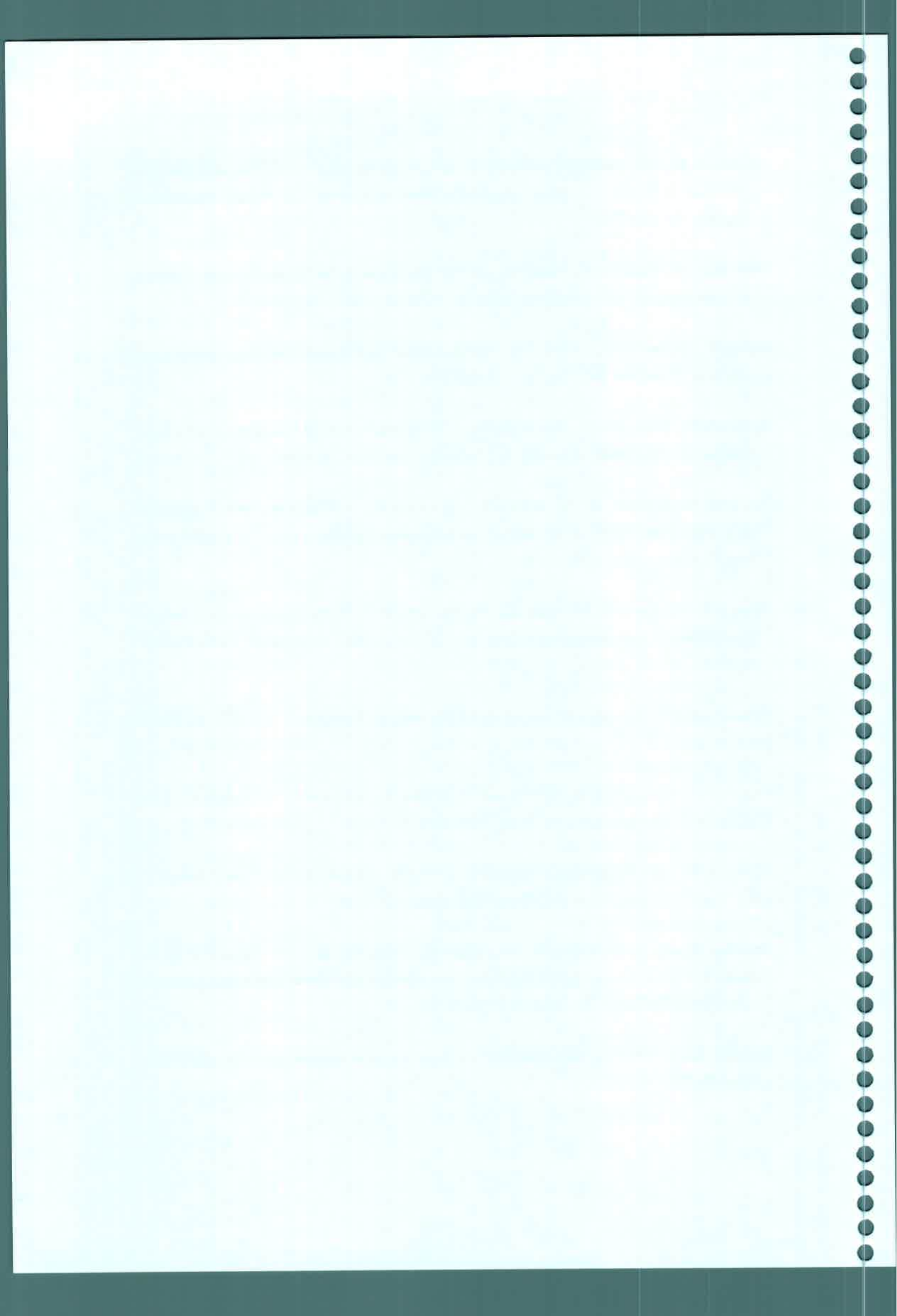
- Koda Y., Kikuta Y.** 1992 Wound-induced accumulation of jasmonic acid in tissues of potato tubers. *Plant Cell Physiol.* 35:751-756
- Koda Y., Kikuta Y., Kitahara T., Nishi T., Mori K.** 1992 Comparisons of various biological activities of stereoisomers of methyl jasmonate. *Phytochem.* 31:1111-1114
- Koda Y., Takahashi K., Kikuta Y.** 1994 Involvement of jasmonic acid and related compounds in the tuberization of Jerusalem artichoke plants (*Helianthus tuberosus* L.). *Jpn. J. Crop Sci.* 63:333-338
- Koda Y., Takahashi K., Kikuta Y., Greulich F., Toshima H., Ichihara A.** 1996 Similarities of the biological activities of coronatine and coronafacic acid to those of jasmonic acid. *Phytochemistry* 41:93-96
- Koda Y.** 1997 Possible involvement of jasmonates in various morphogenic events. *Physiol Plant.* 100:639-646
- Kolomiets M. V., Hannapel D. J., Chen H., Tymeson M., Gladon R. J.** 2001 Lipoxygenase is involved in the control of potato tuber development. *Plant Cell* 13:613-626
- Kost B., Mathur J., Chua N. H.** 1999 Cytoskeleton in plant development. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2:462-470
- Kramell R., Atzorn R., Schneider G., Miersch O., Brückner C., Schmidt J., Sembdner G., Parthier B.** 1995 Occurrence and identification of jasmonic acid and its aminoacid conjugates induced by osmotic stress in barley leaf tissue. *J. Plant Growth Regul.* 14:29-36
- Kramell R., Miersch O., Atzorn R., Parthier B., Wasternack C.** 2000 Octadecanoid-derived alteration of gene expression and the "oxylipin signature" in stressed barley leaves, implications for different signaling pathways. *Plant Physiol.* 123:177-188
- Krumm T., Boland W.** 1996 Leucine and isoleucine conjugates of 1-oxo-2,3-dihydroindene-4-carboxylic acid: mimics of jasmonate type signals and the phytotoxin coronatine. *Molecules* 1:23-26



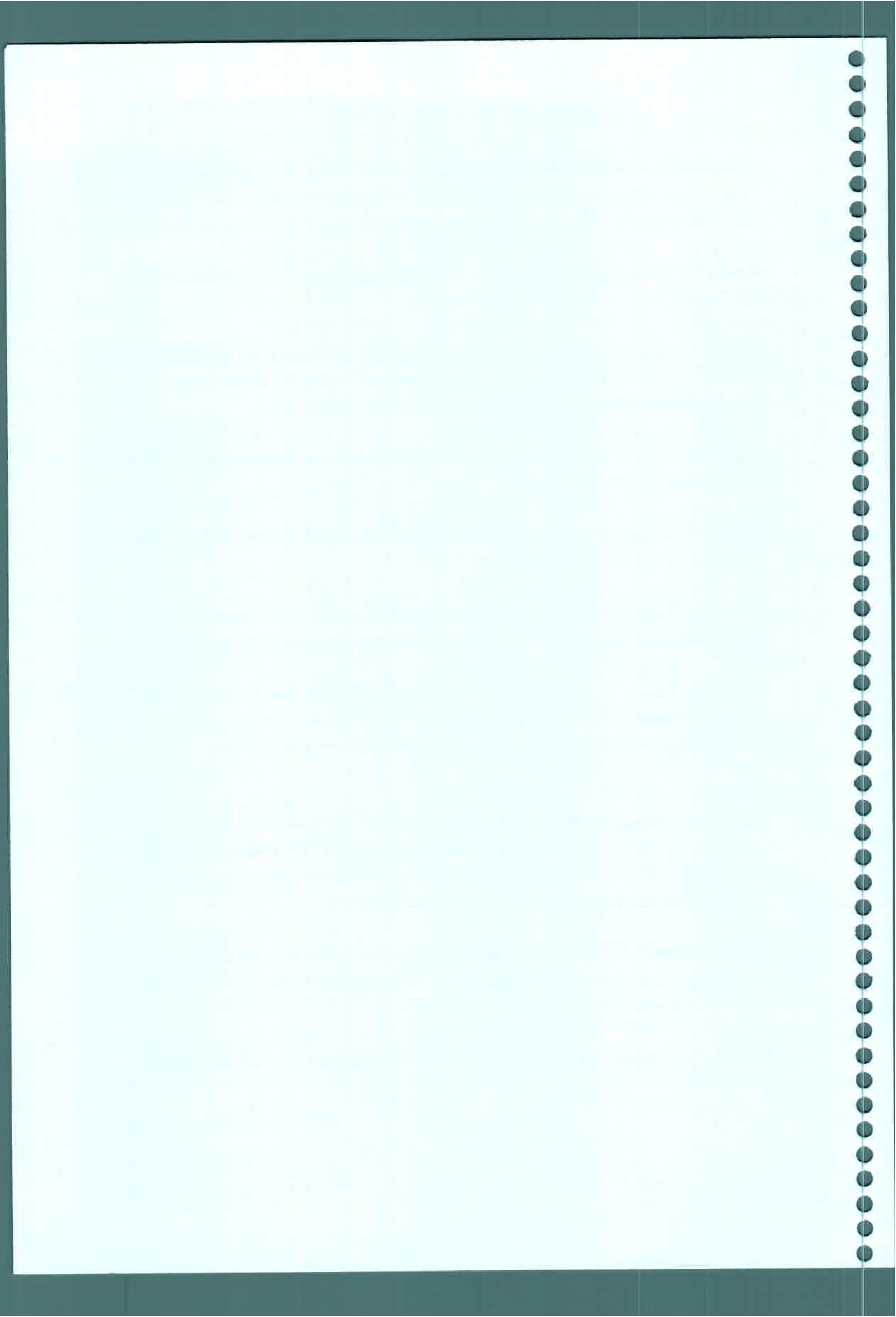
- Laudert D., Pfannschmidt U., Lottspeich F., Holländer-Czytko H., Weiler E. W.** 1996 Cloning, molecular and functional characterization of *Arabidopsis thaliana* allene oxide synthase (CYP74), the first enzyme of the octadecanoid pathway to jasmonates. *Plant Mol. Biol.* 31:323-335
- Laudert D., Weiler E. W.** 1998 Allene oxide synthase: a major control point in *Arabidopsis thaliana* octadecanoid signalling. *The Plant J.* 15:675-684
- Lausfs P., Grandjean O., Jonar C., Kiêu K., Traas J.** 1998 Cellular parameters of the shoot apical meristem in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10:1375-1389
- Laxalt A. M., Munnik T.** 2002 Phospholipid signaling in plant defense. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5:1-7
- Lee S., Suh S., Kim S., Crain C. R., Kwak J. M., Nam H. G., Lee, Y.** 1997 Systemic elevation of phosphatidic acid and lysophospholipid levels in wounded plants. *Plant J.* 12:547-556
- Lee S. H., Chae T. K., Kim S. H., Shin S. H., Cho B. H., Kang B. G., Lee W. S.** 1998 Ethylene-mediated phospholipid catabolism pathway in glucose-starved carrot suspension cells. *Plant Physiol.* 116:223-229
- Lehmann J., Atzorn R., Brückner C., Reinbothe S., Leopold J., Wasternack C., Parthier B.** 1995 Accumulation of jasmonate, abscisic acid, specific transcripts and proteins in osmotically stressed barley leaf segments. *Planta* 197:156-162
- León J., Sánchez-Serrano J. J.** 1999 Molecular biology of jasmonic acid biosynthesis in plants. *Plant Physiol. Biochem.* 37:373-380
- Martin C., Bhatt K., Baumann K.** 2001 Shaping in plant cells. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4:540-549
- Matsuki T., Tazaki H., Fujimori T., Hogetsu T.** 1992 The influences of jasmonic acid methyl ester on microtubules in potato cells and formation of potato tubers. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56:1329-1330



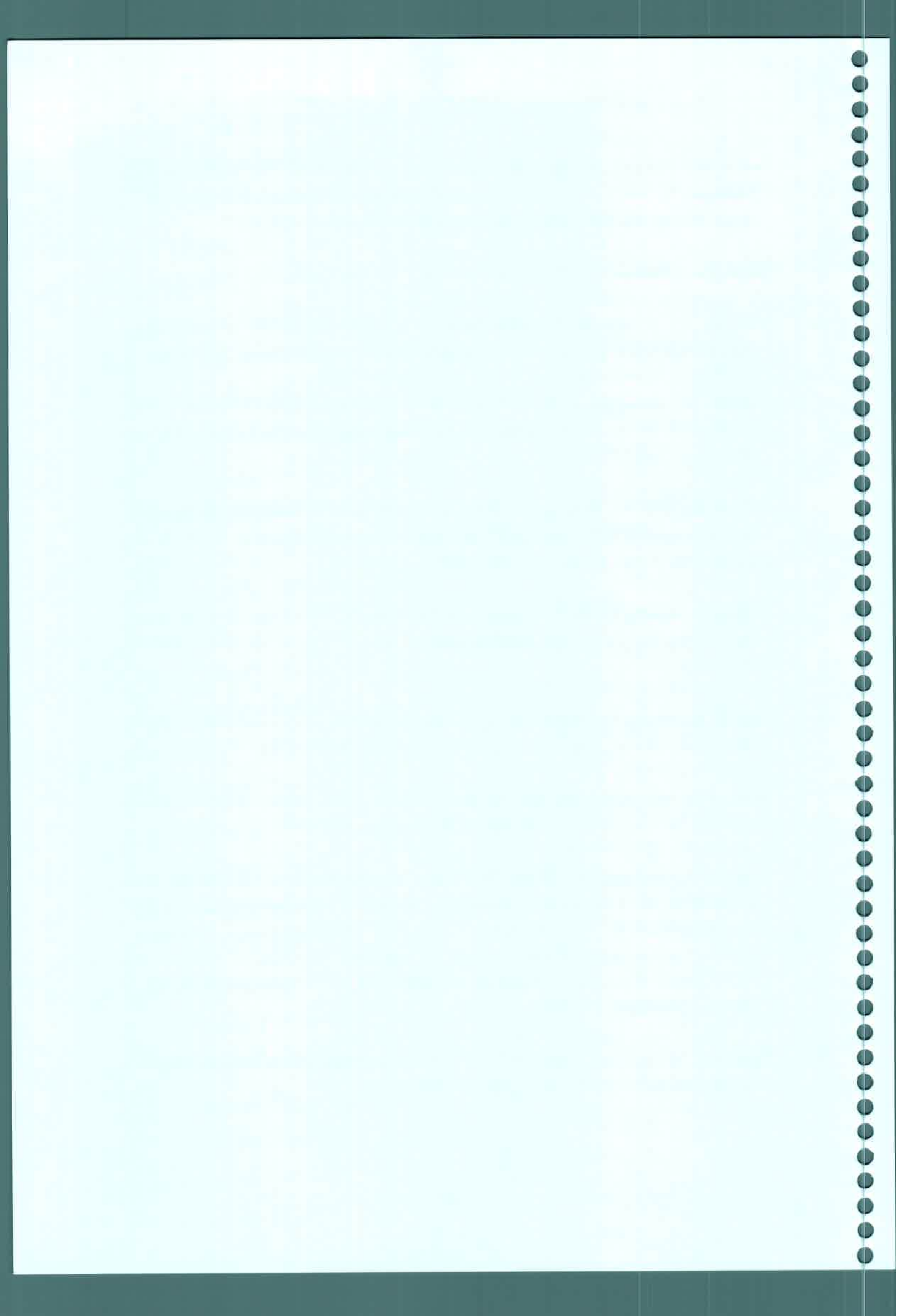
- Matssura H., Ohkubo Y., Yoshihara T.** 2001 Occurrence of 11-hidroxyjasmonic acid glucoside in leaflets of potato plants (*Solanum tuberosum* L.). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65:372-382
- McConn M., Browse J.** 1996 The critical requirement for linolenic acid is pollen development, not photosynthesis, in an *Arabidopsis* mutant. *Plant Cell* 8:403-416
- Miège C., Maréchal E.** 1999 1,2-*sn*-Diacylglycerol in plant cells: product, substrate and regulator. *Plant Physiol. Biochem.* 37:795-808
- Miersch O., Schneider G., Sembdner G.** 1991 Hydroxylated jasmonic acid and related compounds from *Botryodiplodia theobromae*. *Phytochem.* 30:4049-4051
- Miersch O., Knöfel, H. D., Schmidt J., Kramell R., Parthier B.** 1998 A jasmonic acid conjugate, N-[-jasmonoyl]-tyramine, from *Petunia* pollen. *Phytochemistry* 47:327-329
- Moore T. S., Lord J. M., Kagawa T., Beevers H.** 1973 Enzymes of phospholipid metabolism in the endoplasmic reticulum of castor bean endosperm. *Plant Physiol.* 52:50-53
- Moore I.** 2002 Gravitropism: lateral thinking in auxin transport. *Curr. Biol.* 12:R452-R454
- Moreau P., Bessoule J. J., Mongrand S., Testet E., Vincent P., Cassagne C.** 1998 Lipid trafficking in plant cells. *Prog. Lipid Res.* 37:371-391
- Mudd J. B.** 1980 Phospholipid biosynthesis. In: *The Biochemistry of Plants*. Stumpf P. K., Conn E. E., eds. Academic Press, New York. 4:250-282
- Mueller M. J., Brodschelm W., Spannagl E., Zenk M. H.** 1993 Signalling in the elicitation process is mediated through the octadecanoid pathway leading to jasmonic acid. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90:7490-7494
- Mueller M. J.** 1997 Enzymes involved in jasmonic acid biosynthesis. *Physiol. Plant.* 100:653-663



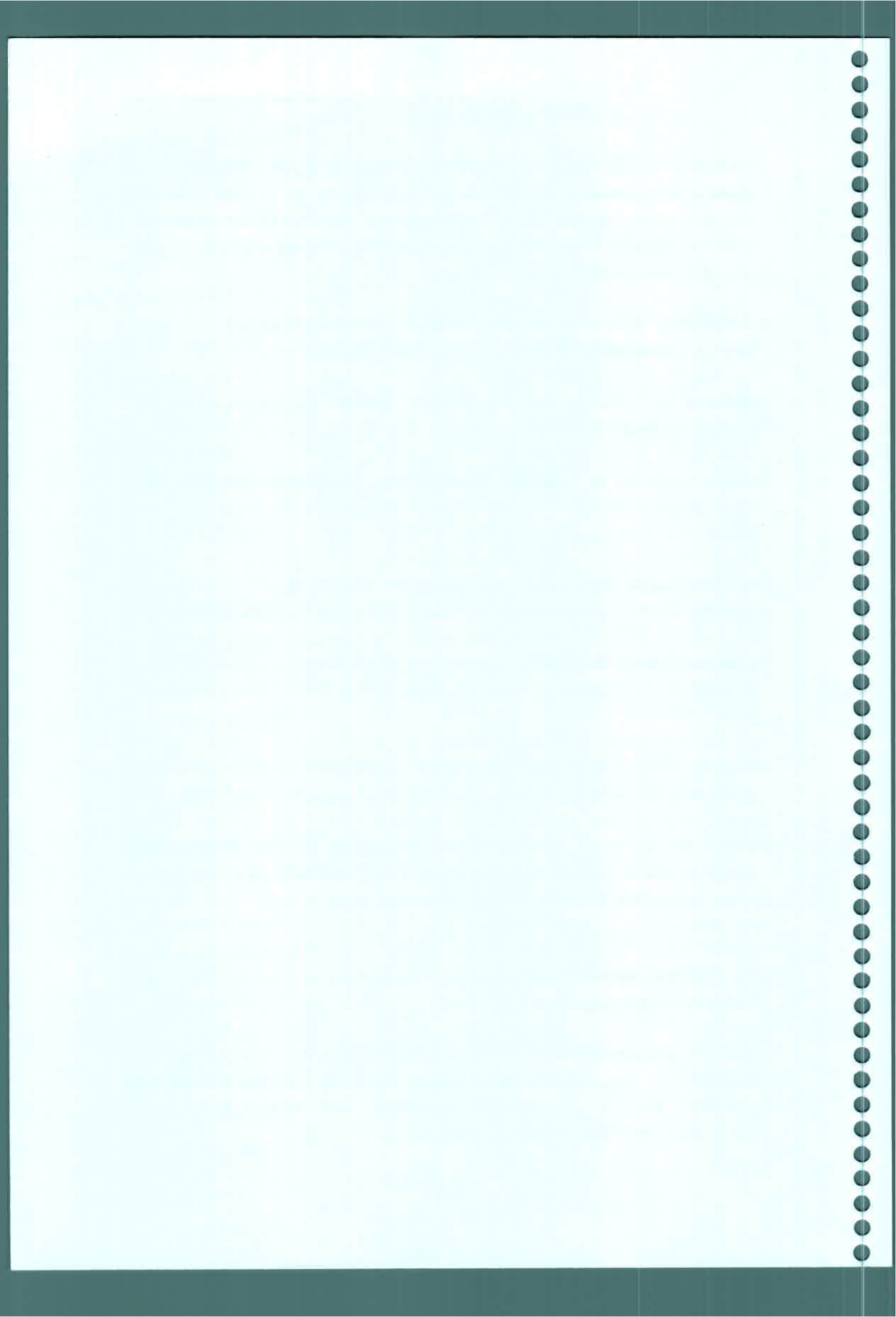
- Müller-Röber B., Sonnewald U., Willmitzer L.** 1992 Inhibition of the ADPglucose pyrophosphorylase in transgenic potatoes leads to sugar storing tubers and influences tuber formation and expression of tuber storage protein genes. *EMBO J.* 11:1229-1238
- Munnik T., Irvine R. F., Musgrave A.** 1998 Phospholipid signalling in plants. *Bioch. et Biophys. Acta* 1389:222-272
- Munnik T., Meijer H. J., Ter Riet B., Hirt H., Frank W., Bartels D., Musgrave A.** 2000 Hyperosmotic stress stimulates phospholipase D activity and elevates the levels of phosphatidic acid and diacylglycerol pyrophosphate. *Plant J.* 22:147-154
- Munnik T.** 2001 Phosphatidic acid: an emerging plant lipid second messenger. *Trends Plant Sci.* 6:227-233
- Munnik T., Musgrave A.** 2001 Phospholipid signaling in plants: holding onto phospholipase D. *Sci STKE* PE42
- Murata N., Higashi S., Fujimura Y.** 1990 Glycerolipids in various preparations of photosystem II from spinach chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* 1019: 261–268
- Mussig C., Biesgen C., Lisso J., Uwer U., Weiler E.W., Altmann T.** 2000 A novel stress-inducible 12-oxophytodi-enoate reductase from *Arabidopsis thaliana* provides a potential link between Brassinosteroid-action and Jasmonic-acid synthesis. *J. Plant Physiol.* 157:143–152.
- Narusaka Y., Narusaka M., Seki M., Fujita M., Ishida J., Nakashima M., Enju A., Sakurai T., Satou M., Kamiya A., Park P., Kobayashi M., Shinozaki K.** 2003 Expression profiles of *Arabidopsis PHOSPHOLIPASE A IIA* gene in response to biotic and abiotic stresses. *Plant Cell Physiol.* 44:1246-1252
- Narváez-Vásquez J., Florin-Christensen J., Ryan C.A.** 1999 Positional specificity of a phospholipase A activity induced by wounding, systemin and oligosaccharide elicitors in tomato leaves. *Plant Cell* 11:2249-2260
- Nick P.** 1999 Signals, motors, morphogenesis- the cytoskeleton in plant development. *Plant Biol.* 1:169-179



- Nojiri H., Yamane H., Seto H., Yamaguchi I., Murofushi N., Yoshihara T., Shibaoka H.** 1992 Qualitative and quantitative analysis of endogenous jasmonic acid in bulbing and non-bulbing onion plants. *Plant Cell Physiol.* 33:1225-1231
- Ohlrogge J., Browse J.** 1995 Lipid biosynthesis. *Plant Cell* 7:957-970
- Paliyath G., Lynch D. V., Thompson J. E.** 1987 Regulation of membrane phospholipid catabolism in senescing carnation flowers. *Physiol. Planta* 71:503-511
- Paliyath G., Thompson J. E.** 1987 Calcium-and calmodulin-regulated breakdown of phospholipid by microsomal membranes from bean cotyledons. *Plant Physiol.* 83:63-68
- Pappan K., Qin W., Dyer J. H., Zheng L., Wang X.** 1997 Molecular cloning and functional analysis of polyphosphoinositide-dependent phospholipase D, PLD β , from *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 272: 7055-7061
- Pappan K., Austin-Brown S., Chapman K. D., Wang X.** 1998 Substrate selectivities and lipid modulation of plant phospholipase D α , - β , and - γ . *Arch. Biochem. Biophys.* 353: 131-140
- Pappan K., Wang X.** 1999 Molecular and biochemical properties and physiological roles of plant phospholipase D. *Biochem. Biophys. Acta* 1439:151-166
- Parthier B.** 1991 Jasmonates, new regulators of plant growth and development: many facts and few hypotheses on their actions. *Bot. Acta* 104:446- 454
- Parthier B., Brückner C., Dathe W., Hause B., Herrmann G., Knöfel H. D., Kramell H. M., Kramell R., Lehmann J., Miersch O., Reinbothe S., Sembdner G., Wasternack C., Zur Nieden U.** 1992 Jasmonates: metabolism, biological activities, and modes of action in senescence and stress responses. In: Progress in Plant Growth Regulation. Karssen C. M., van Loon L. C., Vreudgenhil D., eds. Kluwer, Netherlands. 276-285
- Pelacho A. M., Mingo-Castel A. M.** 1991 Jasmonic acid induces tuberization of potato stolons cultured in vitro. *Plant Physiol.* 97:1253-1255

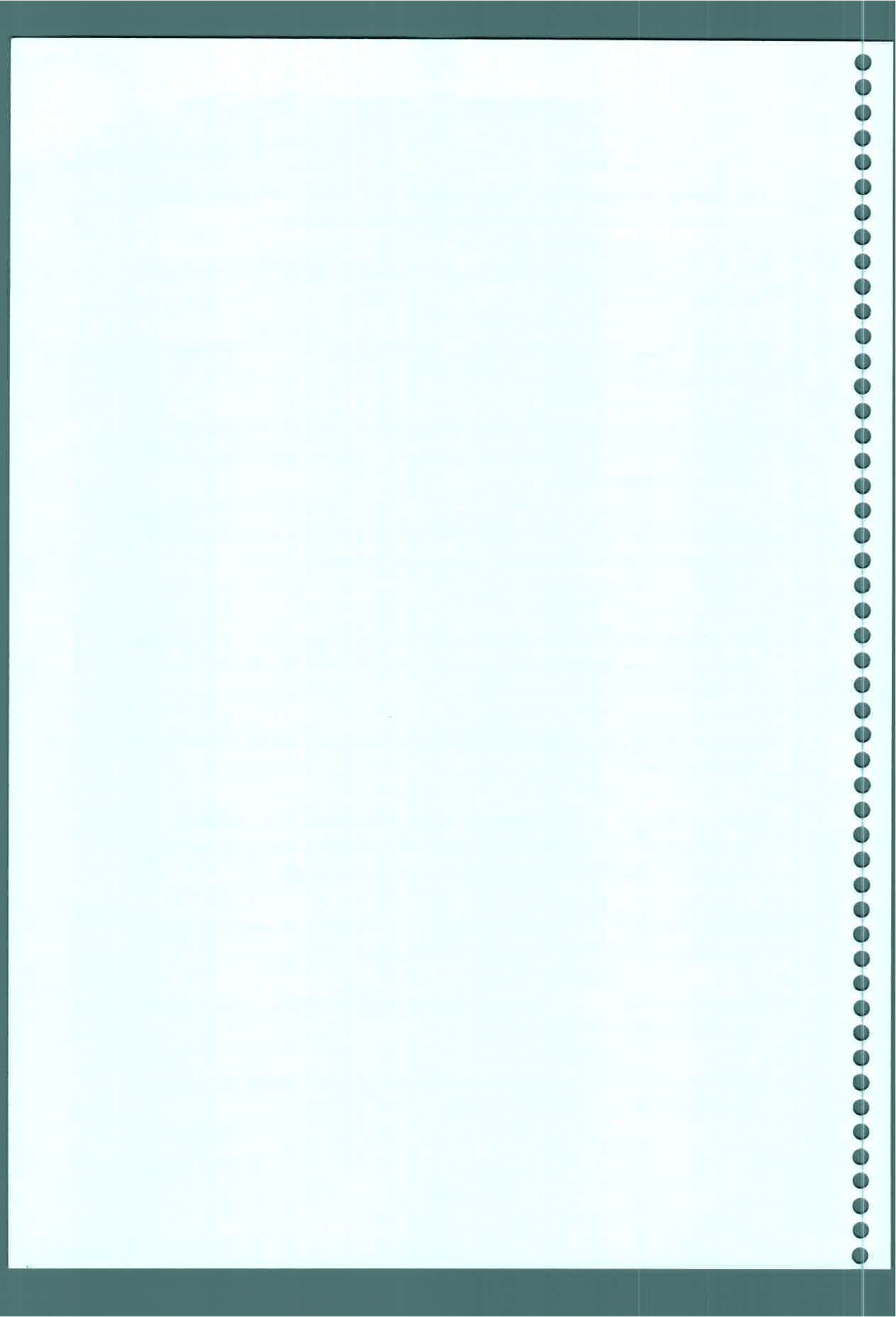


- Penninckx I. A., Eggermont K., Terras F. R., Thomma B. P., De Samblanx G. W., Buchala A., Metraux J. P., Manners J. M., Broekaert W. F.** 1996 Pathogen-induced systemic activation of a plant defense gene in *Arabidopsis* follows a salicylic acid-independent pathway involving components of the ethylene and jasmonic acid responses. *Plant Cell*. 8:2309-2323
- Peterson R. L., Barker, W. G., Howarth M. J.** 1985 Development and structure of tubers. In: *Potato Physiology*, Li P. H., ed., London, Academic Press, 123-147
- Pinhero R. G., Almquist K. C., Novotna Z., Paliyath G.** 2003 Developmental regulation of phospholipase D in tomato frits. *Plant Physiol. Biochem.* 41:223-240
- Racagni G., García de Lema M., Domenech C.E., Machado de Domenech E.E.** 1992 Phospholipids in *Trypanosoma cruzi*: Phosphoinositide composition and turnover. *Lipids* 27:275-278
- Rao M. V., Lee H., Creelman R. A., Mullet J. E., Davis K. R.** 2000 Jasmonic acid signaling modulates ozone-induced hypersensitive cell death. *Plant Cell* 12:1633-1646
- Reymond P., Weber H., Damond M., Farmer E. E.** 2000 Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 12:707-720
- Ritchie S., Gilroy S.** 1998 Abscisic acid signal transduction in the barley aleurone is mediated by phospholipase D activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:2697-2702.
- Rontein D., Wu W. I., Voelker D. R., Hanson A. D.** 2003 Mitochondrial phosphatidylserine decarboxylase from higher plants. Functional complementation in yeast, localization in plants, and overexpression in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 132:1678-1687
- Ross H.** 1986 Potato breeding: problems and perspectives. *J. of Plant Breeding*. Parey P., Berlin, Hamburg eds., 13: 1-132
- Royo J., Vancanneyt G., Pérez A. G., Sanz C., Störmann K., Rosal S., Sánchez-Serrano J. J.** 1996 Characterization of three potato lipoxygenases with distinct enzymatic activities and different organ-specific and wound-regulated gene expression. *J. Biol. Chem.* 271:21012-21019

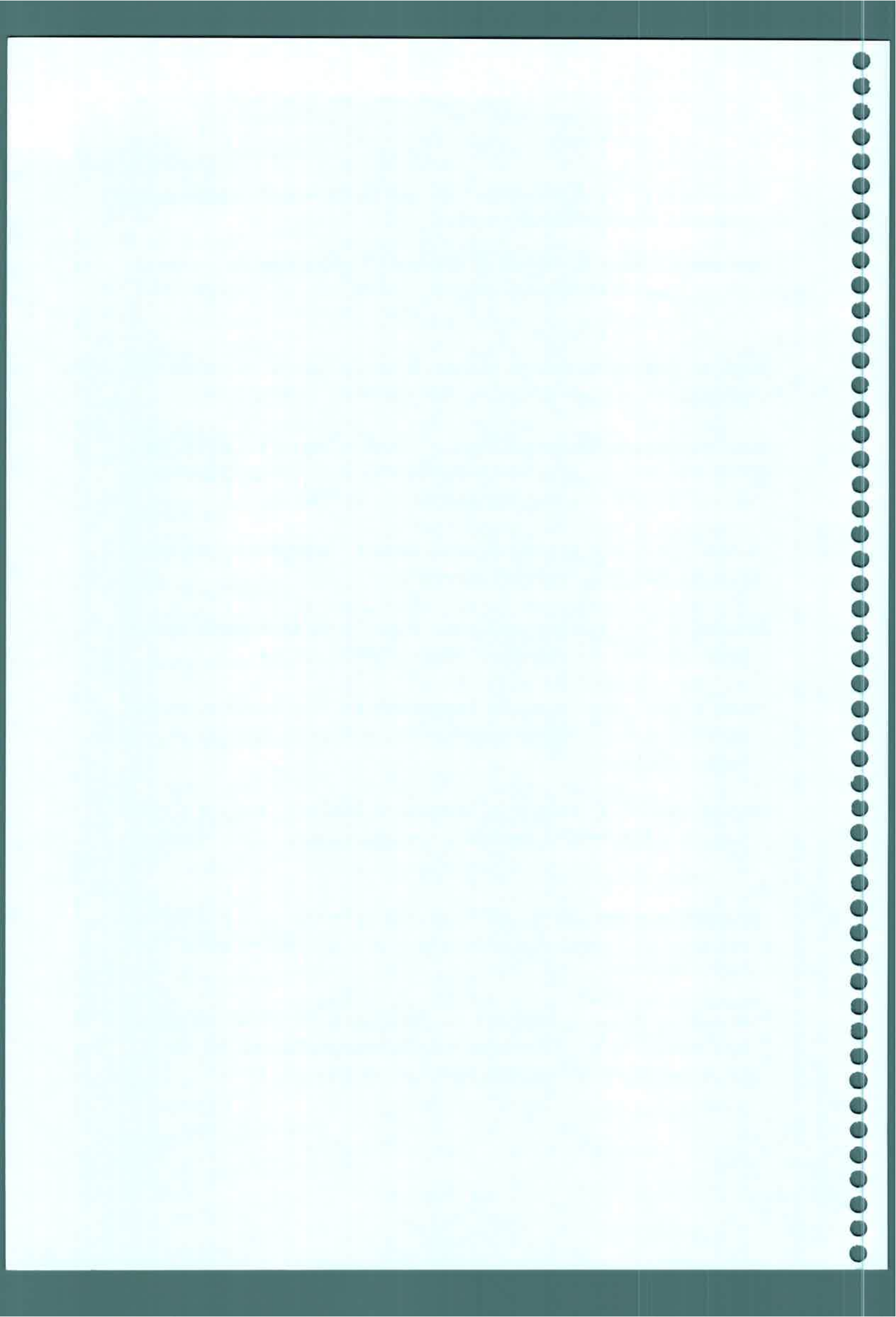




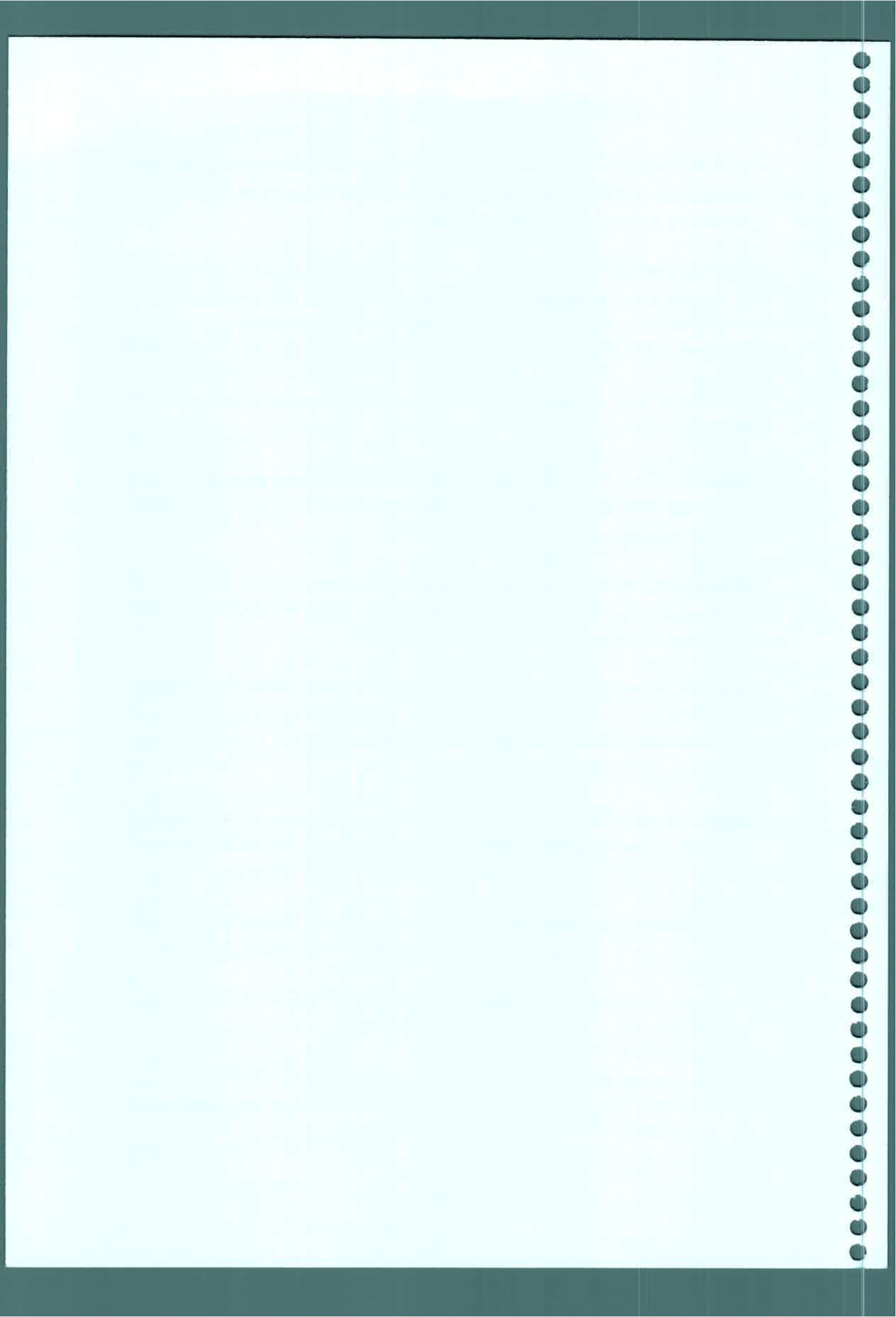
- Ruiz-Medrano R., Xoconostle-Cazares B., Lucas W. J.** 2001 The phloem as a conduit for inter-organ communication. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4:202-209
- Ryan C. A.** 1992 The search for the proteinase-inhibitor inducing factor, PIIF. *Plant Mol. Biol.* 19:123-133
- Ryu S. B., Wang X.** 1995 Expression of phospholipase D during castor bean leaf senescence. *Plant Physiol.* 108:713-719
- Ryu S. B., Wang X.** 1996 Activation of phospholipase D and the possible mechanism of activation in wound-induced lipid hydrolysis in castor bean leaves. *Biochim. Biophys. Acta* 1303:243-250
- Ryu S. B., Karlsson B. H., Ozgen M., Palta J. P.** 1997 Inhibition of phospholipase D by lysophosphatidylethanolamine, a lipid-derived senescence retardant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:12717-12721
- Ryu S. B., Wang X.** 1998 Increase in free linolenic and linoleic acids associated with phospholipase D-mediated hydrolysis of phospholipids in wounded castor bean leaves. *Biochim. Biophys. Acta* 1393: 193-202
- Ryu. S. B.** 2004 Phospholipid-derived signaling mediated by phospholipase A in plants. *Trends Plant Sci.* 9:229-235
- Sanders P. M., Lee P. Y., Biesgen C., Boone J. D., Beals T. P., Weiler E. W., Goldberg R. B.** 2000 The *Arabidopsis* *DELAYED DEHISCENCE1* gene encodes an enzyme in the jasmonic acid synthesis pathway. *Plant Cell* 12:1041-1061
- Sang Y., Zheng S., Li W., Huang B., Wang X.** 2001 Regulation of plant water loss by manipulating the expression of phospholipase D α . *Plant J.* 28:135-144.
- Schaller A., Ryan C. A.** 1996 Systemin, a polypeptide defense signal in plants. *BioEssays* 18:27-33
- Schaller F.** 2001 Enzymes of the biosynthesis of octadecanoid-derived signalling molecules. *J. Exp. Bot.* 52:11-23



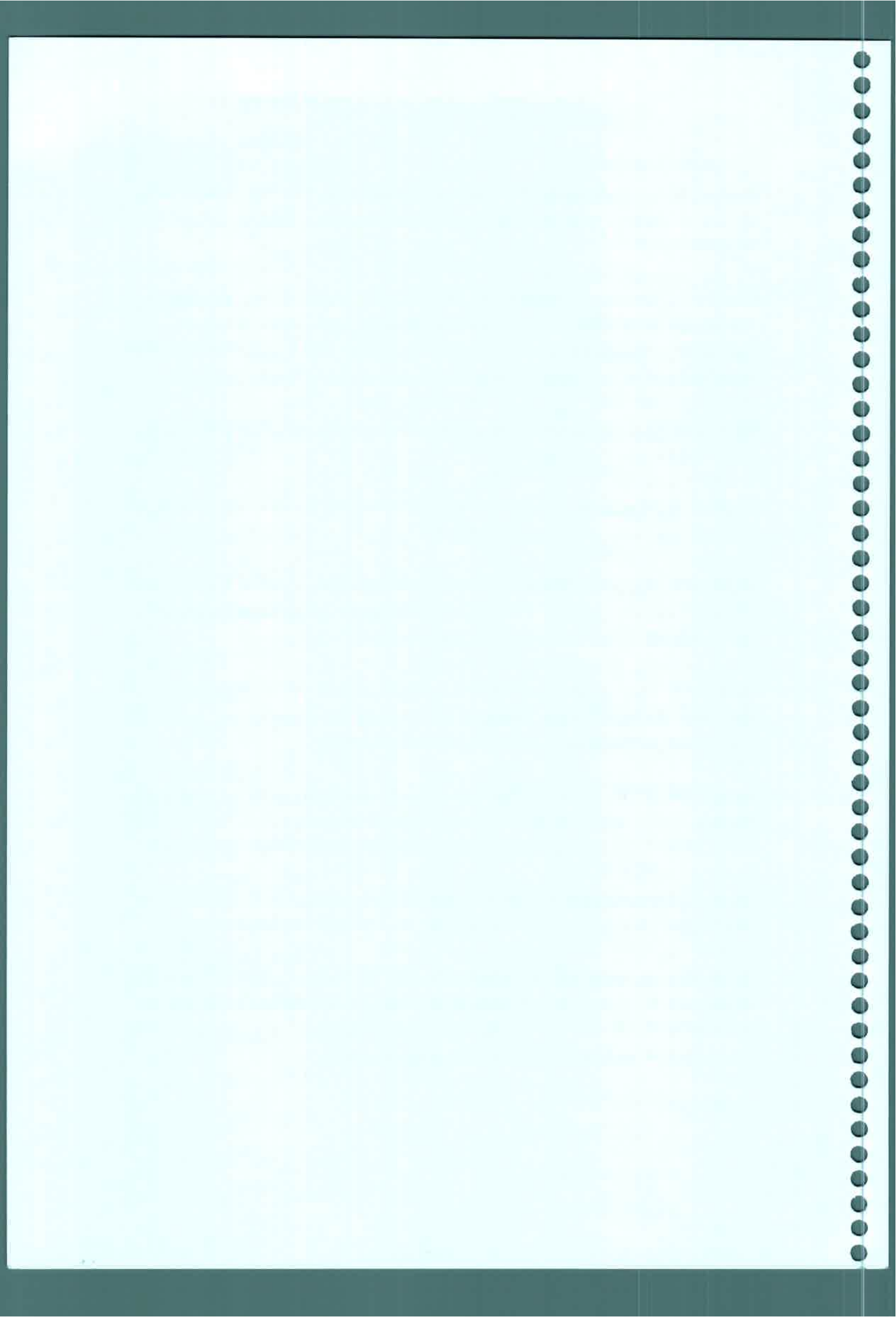
- Scherer G. F. E.** 2002 Secondary messengers and phospholipase A₂ in auxin signal transduction. *Plant Mol. Biol.* 49:357-372
- Sembdner G., Meyer A., Miersch O., Brückner C.** 1990 Metabolism of jasmonic acid. In: *Plant Growth Substances*. Pharis R. P., Rood S. B., eds., Springer-Verlag, New York, 374-379
- Senda K., Yoshioka H., Doke N., Kawakita K.** 1996 A cytosolic phospholipase A₂ from potato tissues appears to be patatin. *Plant Cell Physiol.* 37:347-353
- Seo H. S., Song J. T., Cheong J. J., Lee Y. H., Lee Y. W., Hwang I., Lee J. S., Choi Y. D.** 2001 Jasmonic acid carboxyl methyltransferase: A key enzyme for jasmonate-regulated plant responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:4788-4793
- Shanklin J., Cahoon E. B.** 1998 Desaturation and related modifications of fatty acids. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:611-641
- Shibaoka H.** 1994 Plant hormone-induced changes in the orientation of cortical microtubules. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45:527-544
- Simko I.** 1993 Effects of kinetin, paclobutrazol and their interactions on the microtuberization of potato stem segments cultured in vitro in the light. *Plant Growth Regul.* 12:23-27
- Simko I., Omer E. A., Ewing E. E., McMurry S., Koch J. L., Davies P. J.** 1996 Tuberonic (12-OH-JA) acid glucoside and its methyl ester in potato. *Phytochem.* 43:727-730
- Simpson T. D., Gardner H. W.** 1995 Allene oxide synthase and allene oxide cyclase, enzymes of the jasmonic acid pathway, localized in glycine max tissues. *Plant Physiol.* 108:199-202
- Somerville C., Browse J., Jaworski J. G., Ohlrogge J. B.** 2000 Lipids. Cap. 10. In: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Buchanan B., Gruissem W., Jones R., eds. American Society of Plant Physiologist, Rockville, Maryland, 456-527



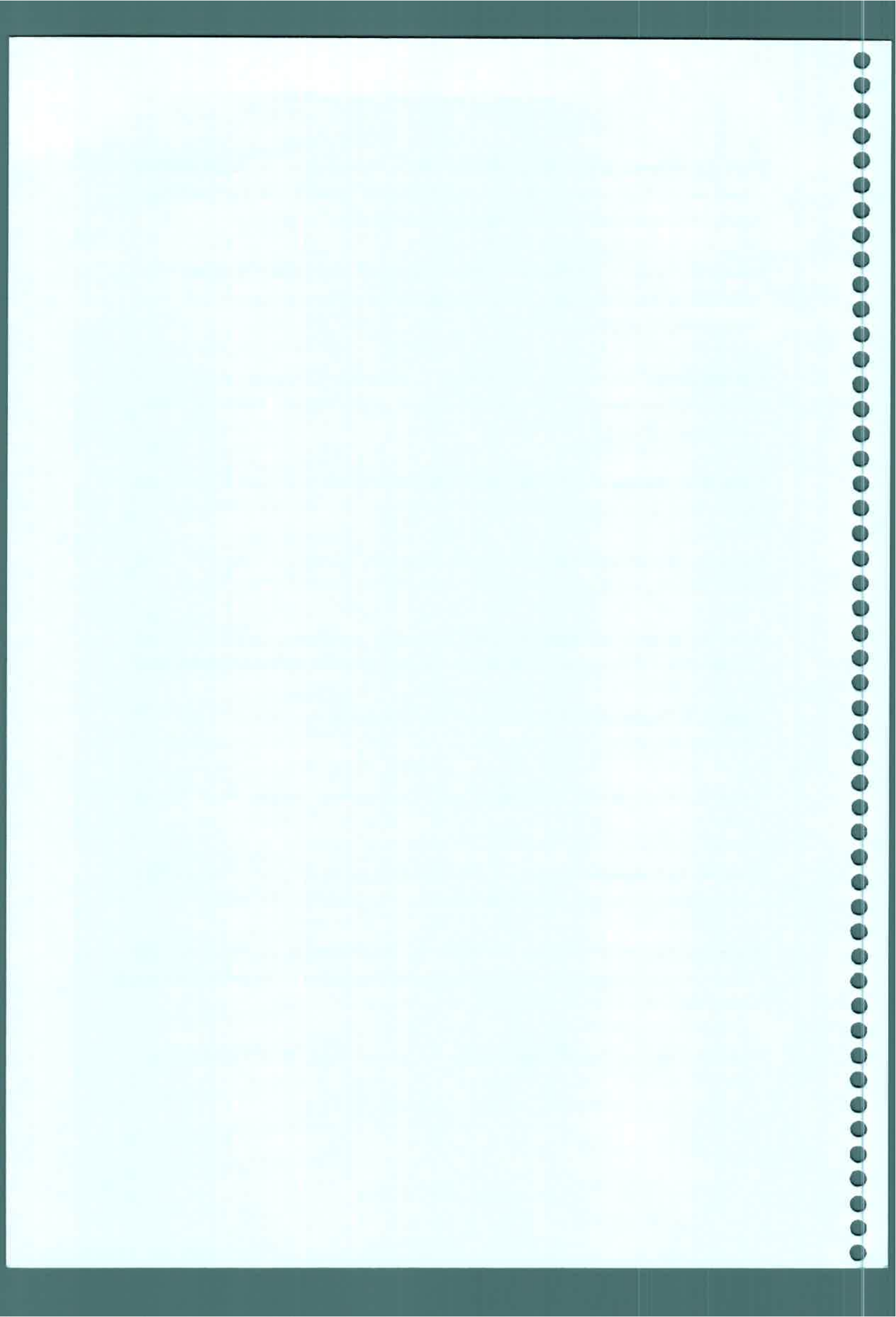
- Sonobe S., Shibaoka H.** 1989 Cortical fine actin filaments in higher plant cells visualized by rhodamine-phalloidin after pretreatment with *m*-maleimidobenzoyl N-hydroxysuccinimide ester. *Protoplasma* 148:80-86
- Stahl U., Lee M., Sjødahl S., Archer D., Cellini F., Ek B., Iannacone R., MacKenzie D., Semeraro L., Tramontano E., Stymme S.** 1999 Plant low-molecular-weight phospholipase A₂s (PLA₂s) are structurally related to the animal secretory PLA₂s and are present as a family of isoforms in rice (*Oryza sativa*). *Plant Mol. Biol.* 41:481-490
- Staswick P. E.** 1990 Novel regulation of vegetative storage protein genes. *Plant Cell* 2:1-6
- Staswick P. E., Su W. P., Howell S. H.** 1992 Methyl jasmonate inhibition of root-growth and induction of a leaf protein are decreased in an *Arabidopsis thaliana* mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:6837-6840
- Stelmach B. A., Muller A., Hennig P., Laudert D., Andert L., Weiler E. W.** 1998 Quantitation of the octadecanoid 12-oxo-phytodienoic acid, a signaling compound in plant mechanotransduction. *Phytochemistry* 47:539-546
- Stelmach B. A., Muller A., Hennig P., Gebhardt S., Schubert-Zsilavecz M., Weiler E. W.** 2001. A novel class of oxylipins, sn1-O-(12-oxophytodienoyl)-sn2-O-(hexadecatrienoyl)-monogalactosyldiglyceride, from *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 276:12832-12838
- Stenzel I., Hause B., Miersch O., Kramell R., Kurz T., Maucher H., Weichert H., Ziegler J., Feussner I., Wasternack C.** 2003 Jasmonate biosynthesis and the allene oxide cyclase family of *Arabidopsis thaliana*. *Plant. Mol. Biol.* 51:895-911
- Sterk P., Booij H., Schellekens G. A., Van Kammen A., De Vries S. C.** 1991 Cell-specific expression of the carrot EP2 lipid transfer protein gene. *Plant Cell* 3:907-921
- Stevenson J. M., Perera I. Y., Heilmann I., Persson S., Boss W. F.** 2000 Inositol signaling and plant growth. *Trends Plant Sci.* 5:252-258
- Stintzi A., Browse J.** 2000 The *Arabidopsis* male-sterile mutant, *opr3*, lacks the 12-oxophytodienoic acid reductase required for jasmonate synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:10625-10630



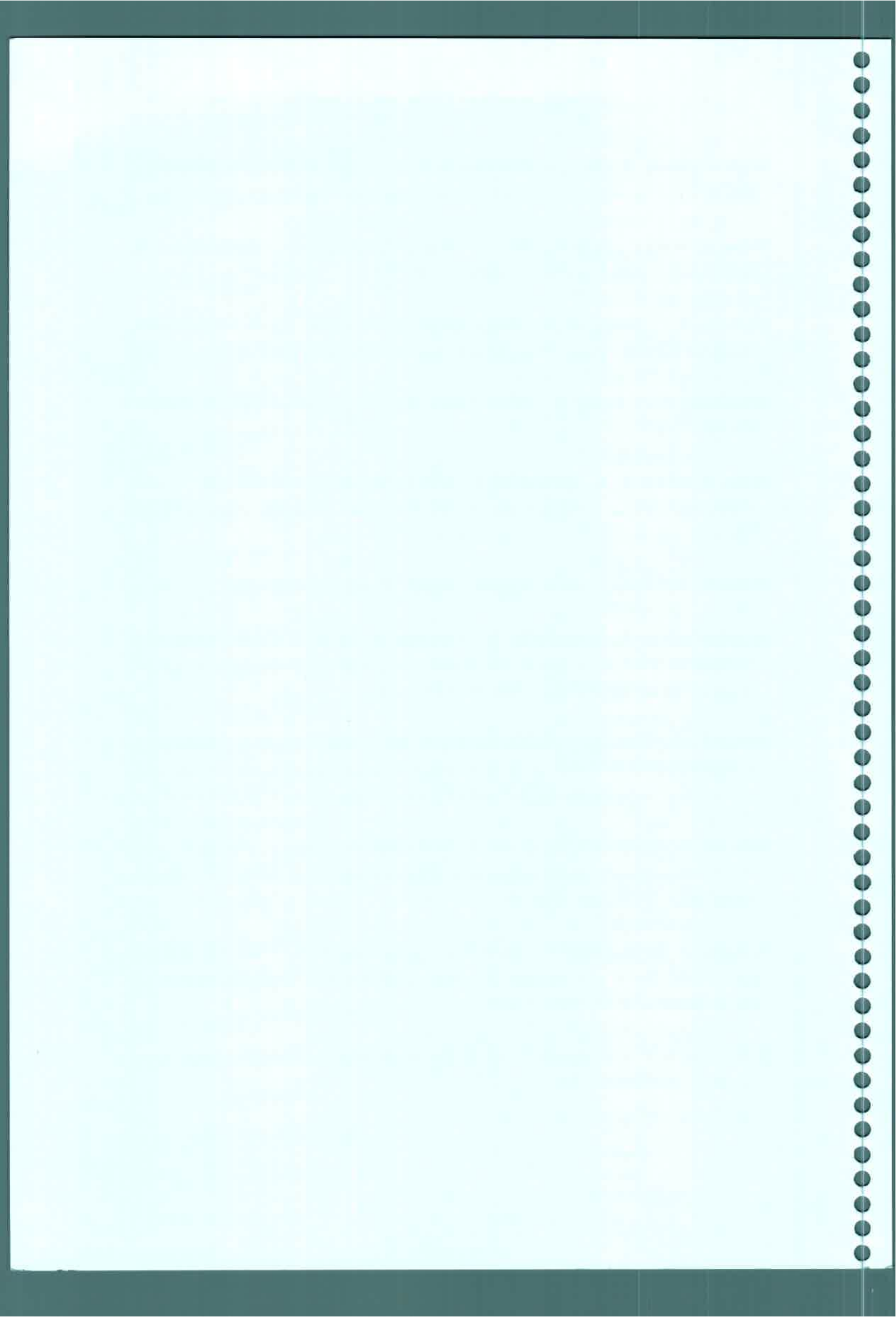
- Stintzi A., Weber H., Reymond P., Browse J., Farmer E. E.** 2002 Plant defense in the absence of jasmonic acid: the role of cyclopentenones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:12837-12842
- Strassner J., Schaller F., Frick U. B., Howe G. A., Weiler E. W., Amrhein N., Macheroux P., Schaller A.** 2002 Characterization and cDNA-microarray expression analysis of 12-oxophytodienoate reductases reveals differential roles for octadecanoid biosynthesis in the local versus the systemic wound response. *Plant J.* 32:585-601
- Taiz L.** 1984 Plant cell expansion: regulation of cell wall mechanical properties. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35:585-657
- Takahashi K., Fujino K., Kikuta Y., Koda, Y.** 1994 Expansion of potato cells in response to jasmonic acid. *Plant Sci.* 100:3-8
- Takahashi K., Fujino K., Kikuta Y., Koda, Y.** 1995 Involvement of the accumulation of sucrose and the synthesis of cell wall polysaccharides in the expansion of potato cells in response to jasmonic acid. *Plant Sci.* 111:11-18
- Trewavas A.** 2000 Signal perception and transduction. Cap. 18. In: *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Buchanan B., Gruissem W., Jones R., eds. American Society of Plant Physiologist, Rockville, Maryland, 930-987
- Van der Luit A. H., Piatti T., van Doorn A., Musgrave A., Felix G., Boller T., Munnik T.** 2000 Elicitation of suspension-cultured tomato cells triggers the formation of phosphatidic acid and diacylglycerol pryrophosphate. *Plant Physiol.* 123:1507-1516
- Vick B. A., Zimmerman D. C.** 1983 The biosynthesis of jasmonic acid: a physiological role for plant lipoxygenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 111:470-477
- Vigliola M. I., Kramarovsky E., Limongelli J. C. H., Mundt C. A. M., Chiesa A., Reigeisen J. G., Lozano J. F., Vallejo H., de Sancho H. R., Barón C., Souto S. M., Daorden M. E., Parían S.** 1998 Solanaceas (papa) En: *Manual de Horticultura*. 2da Edición, Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina. 168-186



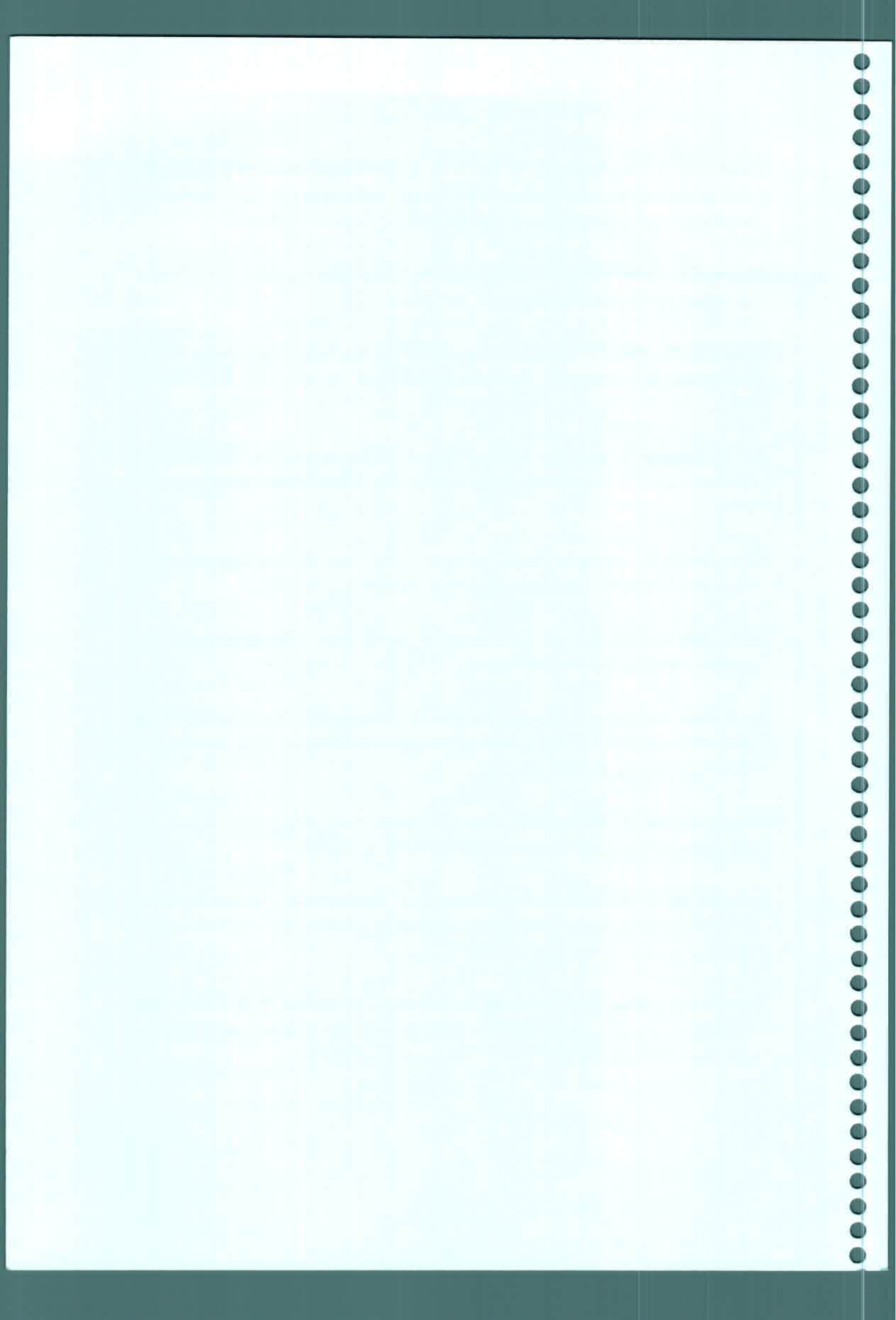
- Viola R., Roberts A. G., Haupt S., Gazzani S., Hancock R. D., Marmioli N., Machray G. C., Oparka K. J.** 2001 Tuberization in potato involves a switch from apoplastic to symplastic phloem unloading. *Plant Cell*. 13:385-398
- Voisine R., Vecina L., Willemot C.** 1993 Modification of phospholipid catabolism in microsomal membranes of γ -irradiated cauliflower (*Brassica oleracea* L.). *Plant Physiol.* 102:213-218
- Vreugdenhil D., Boogaard Y., Visser R. G. F., de Bruijn S. M.** 1998 Comparison of tuber and shoot formation from *in vitro* cultured potato explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 53: 197-204
- Wallis J. G., Browse J.** 2002 Mutants of Arabidopsis reveal many roles for membrane lipids. *Prog. Lipid Res.* 41:254-278
- Wang X.** 1993 Phospholipases. In: *Lipid Metabolism in Plants*, Moore T. S., CRC Press, Boca Raton, FL. 505-525
- Wang X., Dyer J. H., Zheng L.** 1993 Purification and immunological analysis of phospholipase D from castor bean endosperm. *Arch. Biochem. Biophys.* 306:486-494
- Wang T. L., Bogracheva T. Y., Hedley C. L.** 1998 Starch: as simple as A, B, C ?. *J. Exp. Bot.* 49: 481-502
- Wang X.** 1999 The role of phospholipase D in signaling cascade. *Plant Physiol.* 120:645-651
- Wang X.** 2000 Multiple forms of phospholipase D in plants: the gene family, catalytic and regulatory properties, and cellular functions. *Prog. Lipid Res.* 39:109-149
- Wang C., Zien C. A., Afithile M., Welti R., Hildebrand D. F., Wang X.** 2000 Involvement of phospholipase D in wound-induced accumulation of jasmonic acid in Arabidopsis. *Plant Cell* 12:2237-2246
- Wang X.** 2001 Plant Phospholipases. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52:11-231



- Wang C., Wang X. 2001** A novel phospholipase D of Arabidopsis that is activated by oleic acid and associated with the plasma membrane. *Plant Physiol.* 127: 1102-1112
- Wang X., Wang C., Sang Y., Qin C., Welti R. 2002** Networking of phospholipases in plant signal transduction. *Physiol. Plant.* 115:331-335
- Wasternack C., Hause, B. 2002** Jasmonates and octadecanoids: signals in plant stress responses and development. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 72:165-221
- Wasternack C., Parthier B. 1997** Jasmonate-signalled plant gene expression. *Trends Plant Sci.* 2:302-307
- Weber H., Vick B. A., Farmer E. E. 1997** Dinor-oxo-phytodienoic acid: A new hexadecanoid signal in the jasmonate family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:10473-10478
- Weber H. 2002** Fatty acid-derived signals in plants. *Trends Plant Sci.* 7:217-224
- Weidhase R. A. E., Kramell H. M., Lehmann J., Liebisch H. W., Lerbs W., Parthier B. 1987** Methyljasmonate-induced changes in the polypeptide pattern of senescing barley leaf segments. *Plant Sci.* 51:177-186
- Weiler E. W., Albrecht T., Groth B., Xia Z. Q., Luxem M., Lib H., Andert L., Spengler P. 1993** Evidence for the involvement of jasmonates and their octadecanoid precursors in the tendril coiling response of *Bryonia dioica*. *Phytochem.* 32:519-600
- Weiler E. W., Kutchan T. M., Gorba T., Brodschelm W., Niesel U., Bublitz F. 1994** The *Pseudomonas* phytotoxin coronatine mimics octadecanoid signalling molecules of higher plants. *FEBS Lett.* 345:9-13
- Williams J. P., Imperial V., Khan M. U., Hodson J. N. 2000** The role of phosphatidylcholine in fatty acid exchange and desaturation in *Brassica napus* L. leaves. *Biochem. J.* 349:127-133
- Williamson R. E. 1991** Orientation of cortical microtubules in interphase plants cells. *Int. Rev. Cytol.* 129:135-206



- Wismer W. V., Worthing W. M., Yada R. Y., Marangoni A. G.** 1998 Membrane lipid dynamics and lipid peroxidation in the early stages of low-temperature sweetening in tubers of *Solanum tuberosum*. *Physiol. Plant.* 102:396-410
- Wissing J. B., Behrbohm H.** 1993 Diacylglycerol pyrophosphate, a novel phospholipid compound. *FEBS Lett.* 315:95-99
- Witaker B. D.** 1994 Lipid changes in mature green tomato fruit during ripening, during chilling, and after rewarming subsequent to chilling. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119:994-999
- Xu L., Paulsen A. Q., Ryu S. B., Wang X.** 1996 Intracellular localization of phospholipase D in leaves and seedling tissues of castor bean. *Plant Physiol.* 111:101-107
- Xu L., Zheng S., Zheng L., Wang X.** 1997 Promoter analysis and expression of a phospholipase D gene from castor bean. *Plant Physiol.* 115: 387-395
- Xu X., Vreugdenhil D., van Lammeren, A. A. M.** 1998a Cell division and cell enlargement during potato tuber formation. *J. Exp. Bot.* 320:573-582
- Xu X., van Lammeren A. A. M., Vermeer E., Vreugdenhil D.** 1998b The role of gibberellin, abscisic acid and sucrose in the regulation of potato tuber formation in vitro. *Plant Physiol.* 117:575-584
- Yamane H., Abe H., Takahashi N.** 1982 Jasmonic acid and methyl jasmonate in pollen and anthers of three *Camelia* species. *Physiol. Plant.* 52:305-309
- Yanofsky M. J., Izaguirre M., Wagmaster J. A., Jackson S. D., Thomas B., Casal J. J.** 2000 Phytochrome A resets the circadian clock and delays tuber formation under long days in potato. *Plant J.* 23:223-232
- Yoshihara T., Omer E. A., Koshino H., Sakamura S., Kekuta Y., Koda Y.** 1989 Structure of a tuber-inducing stimulus from potato leaves (*Solanum tuberosum* L.) *Agr. Biol. Chem.* 53: 2835-2837



Yoshihara T., Amanuma M., Tsutsumi T., Okumura Y., Matsuura H., Ichihara A. 1996 Metabolism and transport of [2-¹⁴C] (±) jasmonic acid in the potato plant. *Plant Cell Physiol.* 37:586-590

Zabrouskov V., Knowles N. R. 2002 Lipid metabolism during aging of high-linolenate-phenotype potato tubers. *Arch. Biochem. Biophys.* 402:136-148

Zien C. A., Wang C., Wang X., Welti R. 2001 In vivo substrates and the contribution of the common phospholipase D, PLD α , to wound-induced metabolism of lipids in Arabidopsis. *Biochim. Biophys. Acta* 1530:236-248

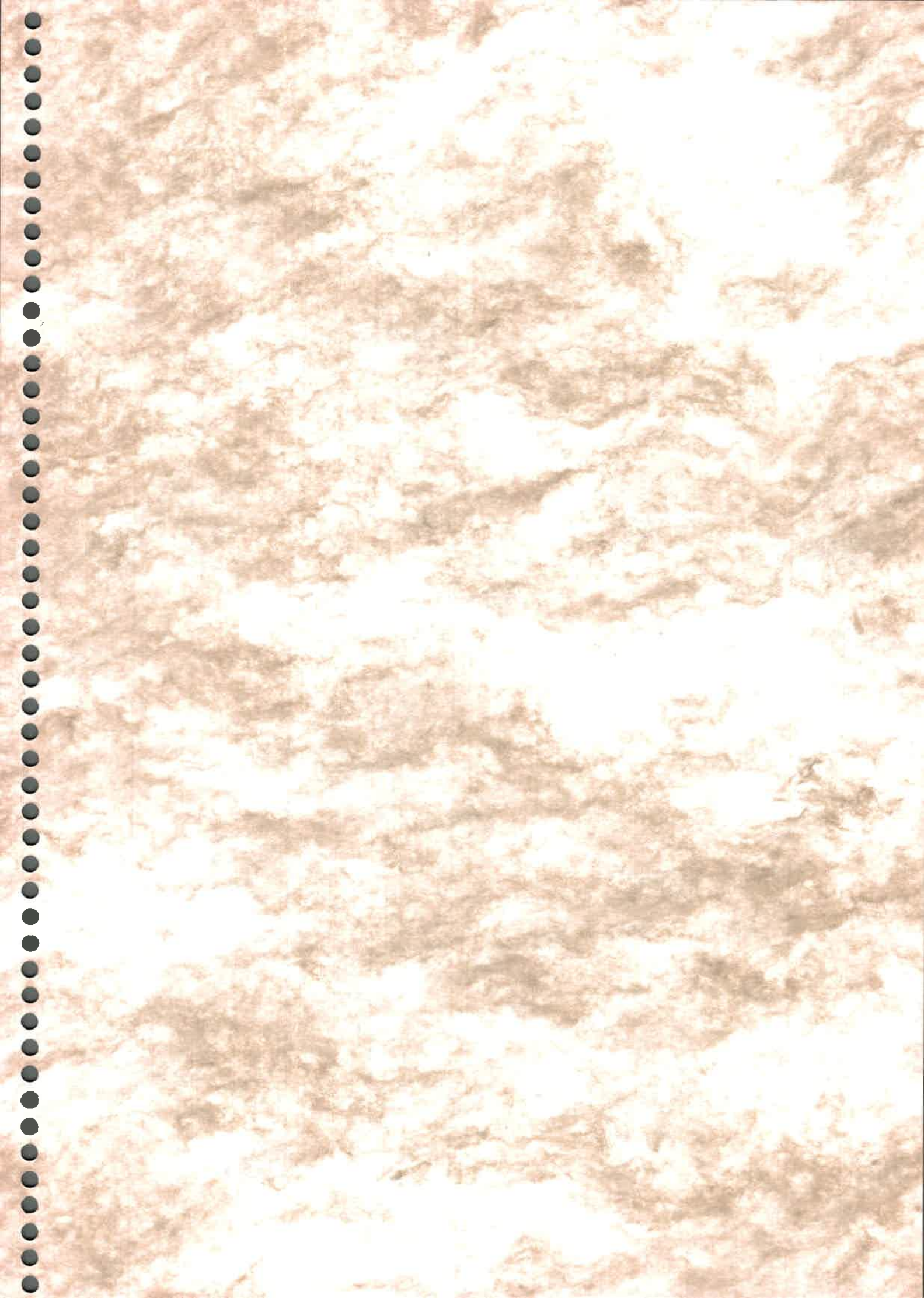


59904

U.N.R.C.
Biblioteca Central



59904



U.N.R.C.
Biblioteca Central



59904