

## EL ENVEJECIMIENTO DE LOS CLONES

Victorio S. Trippi

Un clon puede ser definido como una población de plantas obtenida por multiplicación vegetativa a partir de un solo individuo. La clonación en las plantas es una vieja práctica agrícola que se utiliza para preservar los buenos caracteres de las plantas madres . Lo que resulta de mantener intactos los determinantes genéticos de calidad seleccionados , ya que no estarán sujetos a la recombinación de caracteres que caracteriza la reproducción sexual.

Numerosas especies son usualmente cultivadas como clones a través de métodos vegetativos de multiplicación como estacas o injertos. Entre las más conocidas se pueden citar frutales cítricos como naranja, pomelo, mandarina, entre frutales de pepita y de carozo peral, manzano durazno, ciruelo, etc. entre plantas hortícolas y ornamentales papa, batata, rosales, begonias, peperonias, etc.

En la naturaleza muchas especies forman clones naturales, de las que algunas se perpetúan sólo vegetativamente como el bananero, y otras como en muchos casos forman estructuras reproductivas asexuales como bulbos, tubérculos, rizomas, estolones, etc . En muchos casos puede observarse que el clon se forma a partir de raíces que forman yemas adventicias como en el olmo; en otros casos es un eje caulinar que por su propio peso se curva y establece nuevo contacto con el suelo con formación de raíces como en *Anagallis arvensis*, zarzamora, etc; en otros casos el de plantas estoloníferas, los estolones de crecimiento plagiotrópico van fijándose al suelo con emisión de raíces en cada nudo, como el caso de *Cynodon dactylon*.

En muchos casos la noción de individuo o unidad respecto a la especie se pierde, porque como en muchos árboles, se forma un sistema multicaulinar sea originado por raíces gemíferas o como en el caso de plantas estoloníferas, entre otros.

Este comentario sirve para reconocer clones naturales donde no se ha citado nunca que muestran envejecimiento como clones. Sin embargo, en aquellas plantas cuya forma natural de multiplicación ha sido reemplazada por técnicas desarrolladas por el hombre, desde hace siglos se vienen reconociendo fenómenos de envejecimiento.

El primer documento donde se menciona el envejecimiento de los clones es de Parmentier en 1780 (citado por Benedict, 1915. Bijhower, 1931) discutiendo sobre la propagación vegetativa de la papa (*Solanum tuberosum*). Pero fue Knight (1795) el primero que señala el fenómeno en árboles frutales. Su descripción refiere el fenómeno como un debilitamiento o pérdida de vigor de las plantas, las que adquieren mayor susceptibilidad para contraer enfermedades. Más adelante Knight (1824) escribía ...."Having obtained by layers or cuttings, small plants of the most diseased of the old varieties of the apple, these were grafted within a couple of inches of the surface of the soil with scions of new seedling and luxuriant varieties; and under these circumstances the roots of the most debilitated and diseased varieties executed their office perfectly well, and were found upon examination, at the end of several years, wholly free from every

symptom of disease. This process was reversed, and scions of old varieties were employed as grafts; but into the young growing shoots, which sprang from these, many buds of new and luxuriant varieties were inserted, and in the autumn every natural bud of the old varieties was destroyed"..... Desde entonces se ha señalado que la degeneración clonal se produce en muchas de las plantas cultivadas en las que el hombre ha modificado su sistema de propagación para reemplazarlo por estacas o injertos, como en álamo, caña de azúcar, citrus, rosales, frutales, etc.

Los tipos de crecimiento de las plantas

Asumimos que el tipo de crecimiento definido o indefinido que se observa en las plantas tiene dos condicionantes fundamentales, el determinismo genético de sus células y el ambiente. Basados en el comportamiento de diferentes plantas podemos discernir tres grupos:

1. Plantas que tienen un determinismo genético para crecer vegetativas en forma indefinida bajo condiciones de ambientes diversos en las condiciones naturales.
2. Plantas que crecen fuertemente condicionadas por el ambiente que determina finalmente el tipo de crecimiento indefinido o definido.
3. Plantas que tienen un fuerte determinismo genético para tener un tipo de crecimiento definido bajo diferentes condiciones de ambiente.

Sobre esta base analizamos el comportamiento de clones pertenecientes a los diferentes grupos propuestos (Trippi, 1982).

a) Clones con determinismo genético de crecimiento indefinido.

*Lemna minor* L. constituye un clon natural que ha sido estudiado por muchos años (Ashby *et al*, 1949; Ashby y Wangerman, 1954; Wang y Ashby, 1951; Wangermann, 1965; Wangerman y Lacey, 1953 y 1965). Se trata de una pequeña planta acuática que puede ser fácilmente cultivada en soluciones nutritivas simples bajo condiciones de luz artificial. Tiene la capacidad de multiplicarse vegetativamente formando un clon que no muestra signos de envejecimiento.

La planta consiste en una fronda elíptica y plana de alrededor de 10 mm<sup>2</sup> de superficie. Las frondas hijas se originan a ambos lados de un nudo, al comienzo encerradas en una suerte de bolsillo en la parte inferior de la fronda. Al cabo de un tiempo la unión entre la fronda madre y las hijas se rompe quedando estas últimas en libertad. Las plantas tienen una sola raíz simple (Ashby *et al*, 1949).

En el transcurso de su vida una fronda produce alrededor de 12 frondas en un período de 50 días, para luego envejecer y morir como individuo. El envejecimiento de una fronda lleva a que las frondas hijas sean cada vez más pequeñas. Sin embargo, a partir de las frondas más pequeñas se generan frondas hijas que son de tamaño mayor, de manera que al cabo de algunas generaciones se restaura el tamaño original normal. Esto determina que la edad del clon permanezca en una situación estable.

La capacidad para envejecer y rejuvenecer de los individuos a través de sucesivas multiplicaciones parece inherente a un determinismo genético, ya que el fenómeno se produce en condiciones de ambiente constante. (Fig. 1).

El bananero y otros clones que no envejecen. El bananero es una de las especies cultivadas que no muestran signos de envejecimiento como clon. En realidad es un sistema multicaulinar donde no es fácil discernir el individuo en condiciones naturales. Su multiplicación por la forma de perpetuación natural a través de hijuelos basales, constituye un método fácil y eficiente que preserva de la interferencia de los fenómenos de desarrollo (topophysis) por cuanto los hijuelos son siempre generados en la base del sistema guardando sus caracteres de juvenilidad.

Otras plantas que forman clones naturales que no envejecen son *Cynodon dactylon*, *Cyperus rotundus*, *Chlorophytum elatum*, *Saxifraga* sp, entre otras herbáceas. Entre los árboles muchos con raíces gemíferas como el bosque de lenga, constituyen unidades de crecimiento indefinido multicaulinares. El olmo y la misma sequoia, en realidad son sistemas en donde es difícil percibir el individuo porque se confunde con la especie.

b) Clones de plantas sensibles a la acción del ambiente.

El caso de *Anagallis arvensis* L. La planta es una herbácea que ha sido estudiada desde el punto de vista de su reacción fotoperiódica desde alrededor de 1950 en el Phytotron de Gif sur Yvette, Francia. La floración puede inducirse con un solo día largo y tiene la particularidad de revertir desde el ovario cuando se la devuelve a condiciones de día corto.

Como la planta venía siendo multiplicada vegetativamente por estacas desde varios años, decidimos hacer observaciones controladas en relación a la senescencia como planta y como clon bajo condiciones de día corto (DC/9h/22°C) y de día largo (DL/14h/22°C).

Los resultados demostraron que bajo DC la planta crecía indefinidamente, que sus ramificaciones plagiotrópicas enraizaban en contacto con el suelo formando un sistema multicaulinar que al cabo de seis meses sobrepasaba el contenedor. Cuando las plantas recibían 1DL cada 15 DC, tenían un comportamiento similar al de DC, pero mostraban flores, ya que tiene la capacidad de florecer con un solo DL. Ello demostraba que la presencia de estructuras reproductivas no influían significativamente en su comportamiento.

Bajo DL la planta se organiza de manera más unitaria, sus ramas más robustas pierden la capacidad de formar raíces en contacto con el suelo y florece y fructifica profusamente. La propagación sistemática por estacas es posible hasta la 5ª multiplicación y en la 6ª la capacidad de enraizamiento está totalmente perdida.. Los contenidos en ARN son alrededor del 50% comparados con el clon en DC (Tabla). Ello denotaba que el crecimiento reproductivo era una parte del camino hacia la senescencia y muerte como planta y como clon. El resultado también evidenciaba que el DL determina ambos el crecimiento reproductivo y la senescencia. (Trippi y Brulfert, 1973). (Fig.2).

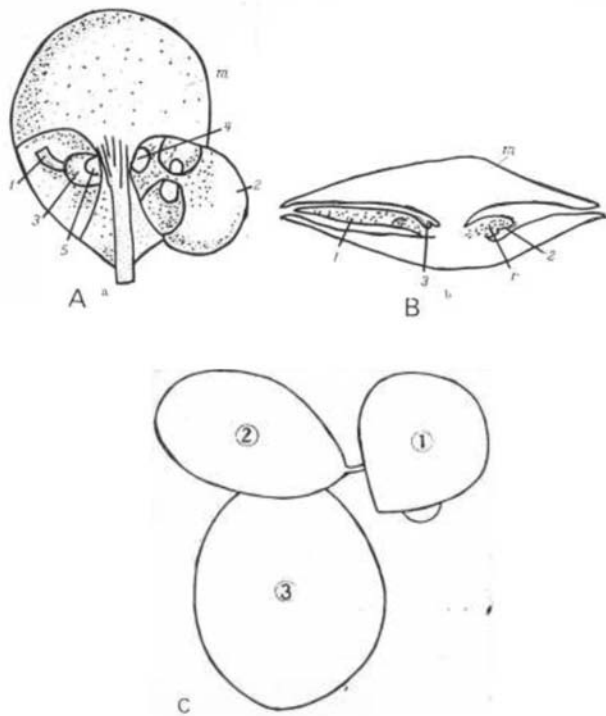


Fig.1.1. A-Fronda madre de *Lemna minor*; 1.tallo de la 1ª fronda hija; 2-2ª fronda hija; 3,4,5 primordios otras frondas. B.-Sección transversal de la región meristemática (Ashby *et al*,1949). C.-Fronda de una etapa tardía de la vida (1), su primera fronda hija (2) y su fronda nieta (3) (Wangermann, 1965).



Fig.1.2. Sequoia sp. forma un clon natural a partir de proliferaciones del entorno del tallo principal, formando un sistema multicaulinar.



Capacidad de enraizamiento, a través de sucesivas multiplicaciones de clones, sometidos a DC; DC + DL y DL (TRUFFI y BAULFERT, 1973).

Multi- plicación	Edad de los clones (días)	Capacidad de enraizamiento		
		DC	DC + 1 DL	DL
1	0	100	100	100
2	15	100	100	100
3	30	100	100	94
4	45	100	100	46
5	60	100	100	25
6	75	100	100	0

ARN total y balance bases en clones de *Anagallis arvensis* L. propagados por estacas bajo DC; DC + 1 DL y DL. Valor promedio de tres ensayos (TRUFFI y BAULFERT, 1973).

Multiplicación			
Número	4	2	1
Edad de plantas (en días)	51	81	96
Total ARN (Microgramos/g.P.S.)			
DC	1778 ± 32	2172 ± 31	1705 ± 32
DC + 1 DL	1898 ± 63	1793 ± 45	1898 ± 62
DL	1104 ± 12	462 ± 20	463 ± 14
A + G / C + U			
DC	.997 ± .021	1024 ± .035	.925 ± .037
DC + 1 DL	.932 ± .064	1001 ± .06	1.023 ± .020
DL	.420 ± .006	.536 ± .008	.846 ± .036

Fig.2. Arriba: *Anagallis arvensis* bajo DL con flores y bajo DC vegetativa. Abajo: El clon bajo DL pierde su capacidad rizogénica a través de cinco multiplicaciones y muestra alteraciones significantes en el contenido en ARN.

El caso de la papa (*Solanum tuberosum* L.. La importación de la papa al Hemisferio Norte significó también la introducción de mejoras en la calidad del producto comercial. Esta circunstancia determinó que se importara papa semilla p.e. desde Canadá, un país con clima más frío que el nuestro. Pronto se verificó que a través de las sucesivas siembras, con papas obtenidas localmente, la producción iba decayendo progresivamente hasta llegar a un punto de falta de rentabilidad para los productores. Esto indujo un estudio sobre las causas de dicho fenómeno que se conoció con el nombre de “degeneración” de los clones de papa.

El grupo de Fisiología Vegetal de la Facultad de Agronomía de La Plata (EM Sivori, FK Claver, R Tizio y ER Montaldi) estudió el problema en la variedad Katahdin y otras. Dichos estudios pudieron establecer que el decaimiento en los rendimientos guardaba relación con los efectos de la alta temperatura, influencia que desde el desarrollo significaba una manifestación anormal de la tuberización. El proceso fue llamado “incubación” y suponía una fase preparatoria que determinaba el acortamiento de la fase de crecimiento vegetativo y la rápida formación de tubérculos más pequeños de menor calidad (Claver, 1953; Claver et al, 1957). La experiencia fundamental consistió en tratar mitades de tubérculos a 25°C durante 45 días y las otras mitades a temperaturas de 4°C durante el mismo período. Los resultados mostraron una reducción de un 30% en los tratamientos a temperatura de 25°C.

Los resultados fueron interpretados como resultado de una variación en la edad fisiológica del clon que influenciado por la acción de la temperatura adquiría la tendencia a tuberizar rápidamente (Tizio, 1951; Tizio y Montaldi, 1953).

A raíz de la controversia acerca de si la “degeneración” era un problema fisiológico o el resultado de una infección virósica, Tizio (1962) realizó un estudio comparativo utilizando altas y bajas temperaturas combinados con plantas sanas y plantas infectadas con virus X. La experiencia demostró que ambos factores temperatura y virus modifican los rendimientos, los que pueden ser aditivos si se combinan alta temperatura y plantas infectadas. (Fig.3)

c) Clones de plantas con determinismo genético de crecimiento definido.

En este tipo de plantas el crecimiento definido tiene lugar bajo ambientes diversos DC, DL, altas y bajas temperaturas, siempre tienden a obtener crecimiento definido generalmente asociado a la reproducción sexual. Muchas de estas plantas tienen crecimiento heteroblástico, es decir que la evolución de sus formas denotan la edad evolutiva de los meristemas en el camino de su evolución hacia la formación de flores y frutos. La multiplicación vegetativa permite en estos casos reproducir por estacas o injertos, pe la forma de la hoja, la tendencia a abscisionar sus hojas, y de formar flores según el lugar de donde proviene el tejido usado para multiplicar la planta, ello según la noción de Topophysis (Molisch,1938 - fig. 4).

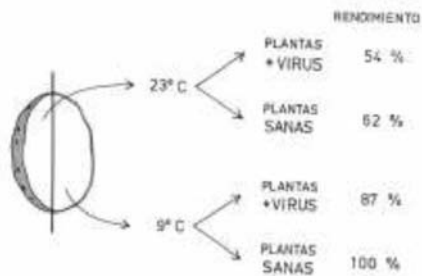


Fig.3. La papa disminuye su productividad por acción de alta temperatura, acortando su periodo vegetativo (incubación de Claver) pudiendo en casos extremos formar tubérculo sobre tubérculo. Abajo: Acción de la alta temperatura combinada con infección de virus X (Tizio 1962). Que evidencia un claro efecto aditivo de ambos factores

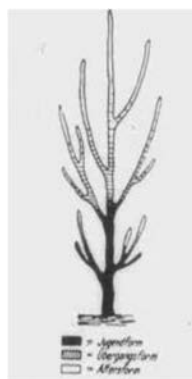


Fig. 4. Esquema denotando en un árbol su zona juvenil adulta y senil, que pueden transmitirse a través de propagación vegetativa, como forma de la hoja, presencia de flores, hábito de crecimiento, presencia de espinas, etc, según la noción de topophysis de Molisch.

El caso del tomate (*Lycopersicon esculentum* L.). El tomate es una planta sin exigencias fotoperódicas específicas, más bien es una planta de reacción cuantitativa. De allí el interés de conocer su comportamiento cuando es multiplicada vegetativamente con estacas que representan la zona juvenil (basal) y adulta (apical) de un tallo que evoluciona a la producción de flores y frutos.

El clon de las estacas basales muestra plantas que reinician su crecimiento con hojas del tipo juvenil y tiene un período de crecimiento vegetativo parecido al de plantas originadas de semilla, para recién formar flores y frutos. El clon de la zona apical reinicia su crecimiento con formas de hojas más evolucionadas y emite un menor número de hojas hasta emitir flores. Con el avance en el número de multiplicaciones vegetativas, incluso el clon de la base acorta su período vegetativo hasta la floración, El clon del ápice pudo ser propagado hasta la 4ª multiplicación por la pérdida de su capacidad para formar raíces. (Trippi,1964) (Figura 5 y 6)



Fig.5. Planta de tomate mostrando la evolución de la forma de la hoja desde la base hasta el ápice. Nótese las formas juveniles en la base de la planta. (Trippi, 1964)

Material	Días hasta Floración	Número de hojas
Plantas de semilla	56	11
Clon Basal	48	7,5
Clon Apical	30	4,7

Fig.6. Comportamiento del clon basal y apical de plantas de tomate comparadas con plantas originadas de semilla (Trippi, 1964).



El caso de los citrus. En las plantas de semillas de los cítricos se observa fácilmente que la zona juvenil de las plantas (basal) muestra espinas y la zona adulta (apical) carece de espinas pero forma flores. De modo que es fácil reconocer en las plantas si proviene de la zona juvenil porque el crecimiento se reinicia con formación de espinas y evoluciona más lentamente hasta producir flores. En cambio, si la planta proviene de la zona adulta forma flores y frutos rápidamente. (Fig. 7). Para acortar el periodo entre plantación y cosecha es natural que los productores eligieron para multiplicar la zona adulta con flores.

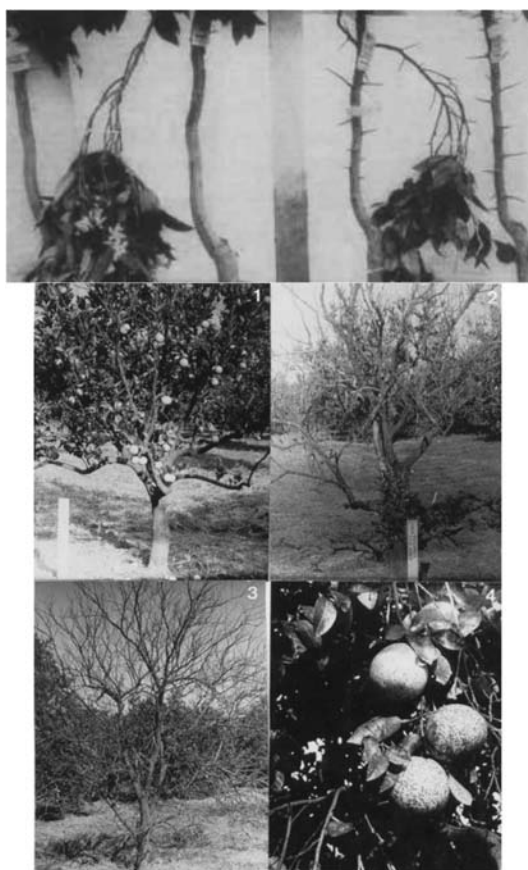


Fig.7. Arriba: Planta de la zona juvenil (con espinas) y planta de la zona adulta (con flores). Abajo; 1,2, 3 progresividad de la declinación de los cítricos conocida como "tristeza" y fructificación en racimo característica de las plantas atacadas con "tristeza". (Trippi, 1982).

Alrededor de 1950, en diversos países citrícolas del mundo como USA, Brasil, Sud Africa, Argentina, etc, las plantaciones mostraban signos de senescencia y muerte en forma masiva. La aparición del fenómeno en ramas de la periferia terminaba afectando a la planta en su totalidad. La enfermedad fue conocida con el nombre de "tristeza" por la progresiva disminución de la vitalidad que terminaba en la muerte.

Las plantas enfermas tenían mayores contenidos de almidón (Silverschmidt, 1948) y una menor actividad respiratoria (Ford, 1953). Las plantas sanas en cambio, mostraban una mayor actividad de catalasas y amilasas y una menor actividad de oxidasas y peróxidasas. (Trippi y Mesias, 1958). Ello denotaba que las plantas enfermas estaban en una situación de prevalencia en fenómenos oxidativos.

La existencia de poliembriónía en los citrus (Osawa, 1912) permitió a Frost, (1938) y Hodgson y Cameron, (1938) obtener nuevas líneas de plantas nucelares para diversas variedades cítricas. Las plantas jóvenes mostraron espigas y lentitud para llegar a florecer y fructificar, Frost (Frost, 1952; Frost *et al*, 1957) interpretaron estos resultados como una restitución de caracteres juveniles en las plantas. Con el paso de los años se restauró la alta productividad, en relación a las viejas líneas, producción que sobrepasaba entre un 30 y el 100% (Cameron, 1948; Cameron y Jhonston, 1949; Cameron y Soost, 1952). El vigor de las plantas, el crecimiento erecto de sus ramas, así como el diámetro de sus tallos denotaban claramente líneas rejuvenecidas .

La calidad de los frutos que escribía Frost (1938) como de forma alargada, mayor cantidad de cáscara y pulpa esponjosa fue desapareciendo con el tiempo (Cameron y Soost, 1952) por lo que se concluyó interpretando el decaimiento de los clones como resultado de una variación fisiológica, no genética, producida por una modificación en las células meristemáticas, que podía ser eliminaba por el pasaje por semillas.

Otro rasgo importante que denotaba el rejuvenecimiento en las líneas nucelares es el contenido en sólidos solubles. (Fig.8).

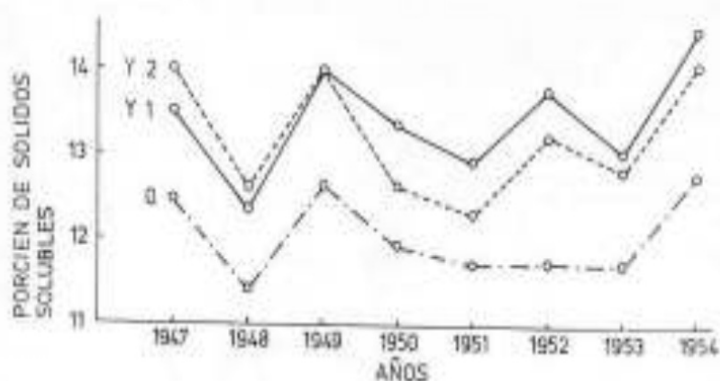


Fig. 8. Porción de sólidos solubles en los frutos de árboles de la vieja línea de Mandarina Satsuma (O) y de líneas jóvenes Y 1, Y2 durante un período de ocho años (Frost et al, 1957).

La declinación de los clones de caña de azúcar. Una revisión histórica del cultivo de la caña de azúcar en los distintos centros de producción, muestra claramente que muchas variedades consideradas excelentes por sus cualidades agrícolas e industriales han sido eliminadas del cultivo por la disminución de sus rendimientos. Por ejemplo la variedad Otahiti, en la mitad del siglo XIX, tuvo que ser reemplazada en las Islas Mauricio y Reunión, en Puerto Rico y en Brasil por evidenciar signos de decaimiento. En la Argentina en 1910, en Louisiana en 1920 y en Puerto Rico en 1925, las variedades Morada y Rayada, fueron reemplazadas por variedades introducidas de Java, como la POJ 36 y POJ 213. Estas variedades fueron nuevamente sustituidas en 1943 por nuevas variedades tucumanas.

Los cultivos afectados por la declinación de los clones, muestran además de una progresiva disminución de los rendimientos, pérdida de vigor de las plantas y de la capacidad de multiplicación vegetativa, además de una mayor sensibilidad para contraer enfermedades, todos caracteres que siempre han sido descriptos asociados al envejecimiento. (Martin, 1952).

La poca documentación experimental del fenómeno en caña de azúcar nos hace recurrir al valor de la estadística. Davidson (1968) demostró que entre 1946 y 1966 la variedad CP 44-101, ha mostrado una disminución en los valores de fibra y polarización, apoyando la idea de un envejecimiento del clon. (Fig.9.)

Basándonos en la evolución de la curva sigmoide del crecimiento de las plantas de crecimiento definido y en el comportamiento de los tejidos a lo largo del tallo orientado a la floración, interpretamos que el envejecimiento, de los clones de caña, debe ser un fenómeno natural, siguiendo la curva de la producción de fibra (Fig 9). Ello basándonos también en la forma que usualmente se toman las estacas para la multiplicación, diferente a la que usa la naturaleza.

Siendo el crecimiento vegetativo la base de la producción en este cultivo, por cuanto son los tallos los que acumulan el azúcar, la evolución de tallos hacia el crecimiento reproductivo, produciría modificaciones fisiológicas, que se transmiten vegetativamente a las nuevas plantas según el concepto de topophysis o edad fisiológica.

### **La multiplicación vegetativa induce un rejuvenecimiento parcial**

El rejuvenecimiento en plantas de crecimiento definido multiplicadas vegetativamente fue sospechado por el simple hecho de que la longevidad como clon sobrepasa largamente la vida de la planta madre como individuo.

Usando clones originados de la zona juvenil y zona adulta de *Robinia pseudoacacia*, pudimos percibir por la actividad de algunas enzimas que la multiplicación vegetativa inducía cambios que podían ser considerados como rejuvenecimiento. Sin embargo, desde el punto de vista morfológico conservaban los caracteres específicos de juvenilidad los de la zona basal y de adultez los de la zona adulta incluyendo diferencias en la capacidad de crecimiento de sus tejidos cuando cultivados in vitro. Interpretamos los hechos como resultado de un rejuvenecimiento parcial, originado en la ruptura de correlaciones que se produce en la extracción de estacas de la planta madre. Correlaciones que con el tiempo tienden a reinstalarse en la nueva planta (Trippi, 1963).

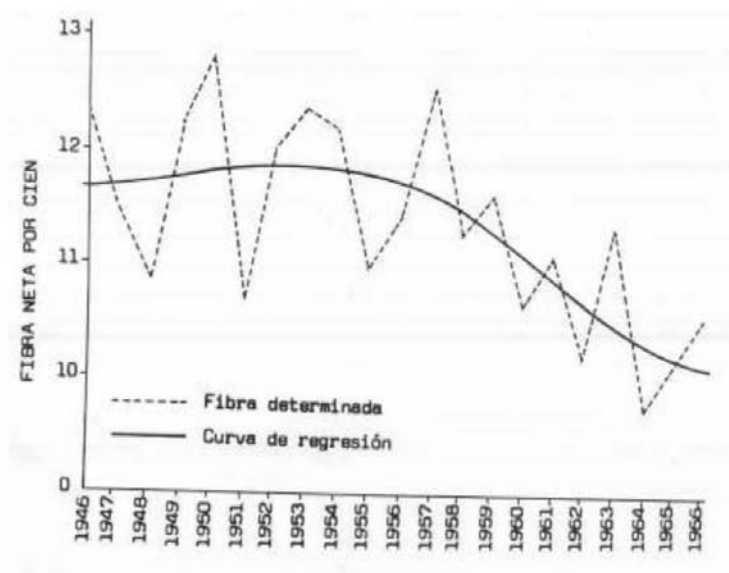
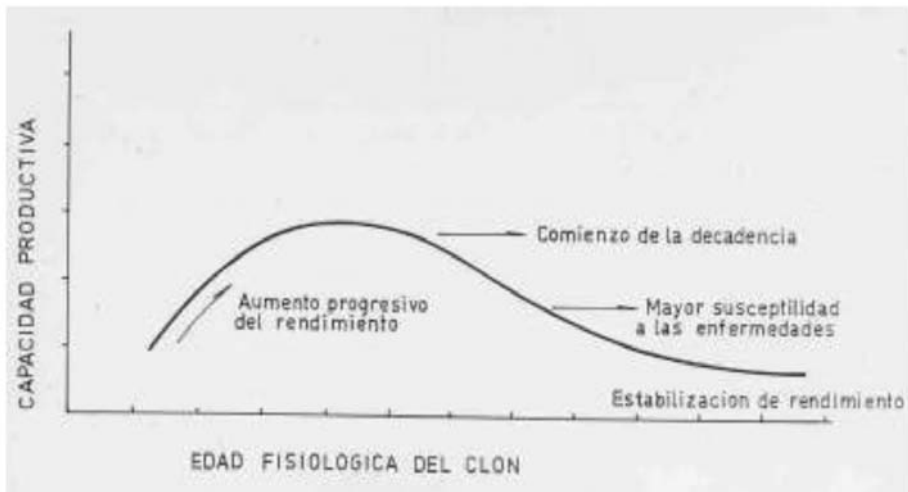


Fig.9. Arriba; Curva teórica de la evolución de los rendimientos en un clon del tipo crecimiento definido.  
 Abajo: Notese la similitud con la evolución del contenido en fibra a través de 20 años de la variedad CP44-101 (Davidson,1968)

Una confirmación de nuestra interpretación surge de los estudios realizados en *Vitis vinifera*. Benedict (1915) había demostrado que en *Vitis vulpina* propagada por estacas, que las plantas formadas guardaban los caracteres de edad de las plantas madres. Como indicador utilizó la densidad del retículo de nervaduras de las hojas, el que se hace más denso con el aumento de edad de las plantas, carácter reconocido en otras leñosas asociado a condiciones de estres hídrico.

Nuestras observaciones en *Vitis vinifera* se hicieron en plantaciones de 3, 10 y 30 años, y los resultados evidenciaban que entre los 3 y los 10 años se produce un retroceso en la densidad del retículo de nervaduras, denotando un rejuvenecimiento que toma lugar durante varios años. En cambio las plantas de 30 años si evidencian un pronunciado aumento en la densidad del retículo de nervaduras. Por ello parece razonable reconocer que la multiplicación vegetativa induce siempre un rejuvenecimiento, originado en un reajuste de correlaciones entre órganos y tejidos (Trippi 1965). (Fig. 10).

### **La naturaleza de la senescencia**

La senescencia de los clones de plantas con crecimiento definido plantea la situación que la senescencia puede ser transmitida por propagación vegetativa según la noción de topophysis (Molisch, 1938).

La fracción celular que aparentemente guarda los cambios derivados de la edad y la senescencia fue sospechada por Minot (1907) pero los indicios experimentales más cercanos se evidencian desde los trasplantes de núcleo realizados en *Paramaecium* (Sonneborn, 1957; Sonneborn y Scheller, 1960). Los resultados sugerían que el citoplasma registra los cambios que se asocian a la edad y la senescencia. Por la misma época una clara evidencia surge con los trabajos de Rizet (1942;1953) en el hongo *Podospora anserina* Rhem. El envejecimiento del hongo tiene mucha similitud con lo que se observa en las plantas. El hongo tiene crecimiento indefinido a 16°C, pero por arriba de esta temperatura muestra fenómenos de envejecimiento. (Marcou, 1954).

Rizet (1942) atraído por una anomalía del crecimiento que se transmite por reproducción sexual según un esquema no mendeliano, describió que bajo ciertas condiciones (alta temperatura) el crecimiento del micelio no se prosigue indefinidamente. La velocidad de crecimiento disminuye, y luego de algunas días el crecimiento se detiene. En el último periodo los micelios son más delgados, menos densos, más sinuosos, sus extremidades se vacuolizan o aumentan de tamaño, a veces sus paredes explotan, observándose también un aumento en la pigmentación. Las ondas de crecimiento se hacen cada vez menos densas y las hifas mas débiles. Los síntomas fueron reconocidos como senescencia y posteriormente verificados en otras especies por Marcou (1961) y por otros autores (Sharpe, 1958; Jinks, 1959).

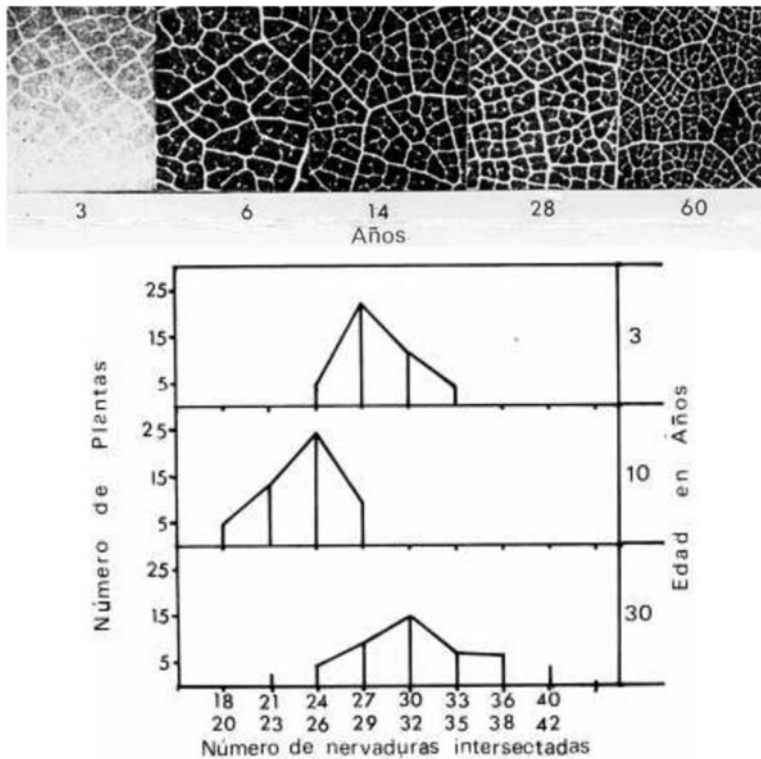


Fig .10. Arriba: El retículo de nervaduras en *Vitis vulpina* se hace más denso con la edad de las plantas. (Benedict, 1915). Abajo: Cambios en el número de nervaduras intersectadas en *Vitis vinifera* var. Malbeck, en cultivos de 3, 10 y 30 años. Nótese que el reajuste de correlaciones dura por varios años (edad entre 3 y 10 años) para volver a aumentar luego (Trippi, 1965)

El comportamiento del hongo a alta temperatura, tiene mucha similitud con lo que se observa en las plantas de crecimiento definido. Los meristemas crecen por su extremidad apical como en las plantas. También se observa un comienzo de organización heteroblástica que se traduce en diferencias marcadas en las articulaciones o células de edad diferente, aunque conservando sus potencialidades regenerativas, de modo que los segmentos aislados y sembrados forman un nuevo individuo o clon, conservando los caracteres del lugar de donde proviene el trozo de micelio usado para la multiplicación. Asimismo, las porciones de micelio al origen de la siembra reproducen el hongo que crece como el de un explanto normal original, pero en la medida que la extracción de micelio se aproxima a la zona de detención del crecimiento, el nuevo organismo crece cada vez menos. (Fig 11)

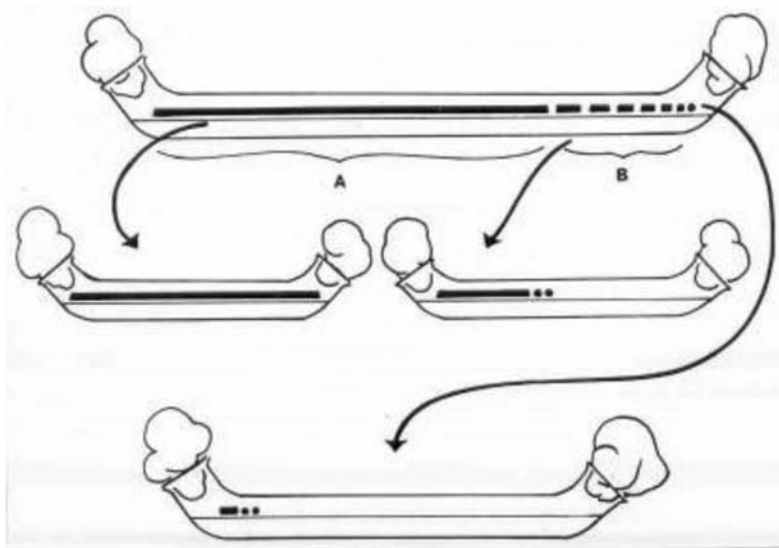


Fig.11 En *Podospora anserina* el estado senescente, incluyendo la capacidad de crecimiento del hongo puede transmitirse vegetativamente según la ubicación del trozo de micelio que se replica (Rizet *et al*, 1958). La zona en la que inicia el crecimiento vegetativo (A) crece mucho más que el repique de (B) donde el crecimiento se detiene.

Se puede decir que la evolución del micelio hacia el estado senescente se reproduce de manera similar que en el tallo de una planta de crecimiento definido.

El estado senescente de *Podospora* pudo ser transmitido por anastomosis de micelios normales y senescentes, pero sin pasaje de contenido nuclear (Marcou, 1961). Ello mostraba claramente que el factor infeccioso del carácter senescente residía en el citoplasma. Otras evidencias surgen de la transmisión sexual del carácter senescente cuando se conjugan cepas de *Podospora anserina* Normal y Senescente. Cuando la cepa femenina es normal la descendencia es siempre normal, en cambio cuando la cepa femenina es senescente la descendencia muestra hasta un 10% el carácter senescente (Rizet y Marcou, 1954; Rizet *et al*, 1958). Hecho que evidencia una vez más que la senescencia y sus alteraciones se ubican en el citoplasma.

La funcionalidad de las células resulta de la interacción del núcleo y del citoplasma y al mismo tiempo que el citoplasma resulta de la funcionalidad del núcleo, tiene la capacidad de regular su funcionalidad. Los cambios asociados con el envejecimiento, parecen por lo tanto formas de diferenciación celular, que en la actualidad se reconocen como resultado de fenómenos de metilación de parte del genoma, que determina una expresión diferencial. Sólo la conjugación de las gametas en la reproducción sexual bajo condiciones normales implica la reprogramación del núcleo y la eliminación de la memoria de las alteraciones citoplásmicas producidas durante el desarrollo. Estos avances que derivan de la biología animal orientada a la clonación y a la obtención de células pluripotentes han dejado claramente establecida la importancia del citoplasma (Rasmussen, 2003; Armstrong *et al*, 2006).

## Conclusiones

1. El envejecimiento de los clones se observa en plantas que muestran crecimiento definido por un determinismo genético, cuando se multiplican con tejidos que evolucionan hacia el crecimiento reproductivo.
2. Las plantas fuertemente influenciadas por el ambiente, pueden mostrar fenómenos de senescencia cuando la condición de ambiente determina el crecimiento reproductivo.
3. Los cambios asociados con la edad resultan de alteraciones del citoplasma como un tipo de diferenciación celular. Cambios que pueden ser revertidos a través de la reproducción sexual o mecanismos vegetativos naturales como la poliembrionia.

## BIBLIOGRAFIA

Armstrong, L, Lako,M, Dean,W, Stojkovic,M. 2006. Epigenetic Modification is central to Genome Reprogramming in Somatic Cell Nuclear transfer. *Stem Cells*, 24:805-14. [www.stemcells.com](http://www.stemcells.com).

Ashby E Wangerman E Winter EJ. 1949. Studies in the morphogenesis of leaves .III. Preliminary observations on vegetative growth of *Lemna minor*. *New Phytol.*48:374-81.

Ashby E Wangerman E. 1954. The effects of meristem aging on the morphology and behavior of fronds in *Lemna minor*. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 57:476-83.

Benedict HM. 1915. Senile changes in leaves of *Vitis vulpina* L. And certain other plants. *Mem.Cornell Agric.Exp.Sta.* 7:281-370.

Bijhower APC. 1931. Old and new stand points on senile degeneration.*J.Hort. Sci.* 9:122-32.

Cameron JW. 1948. The nehaiour of some nucellar seedling lines in citrus. *Califirnia Citrograph* 33:367-68.

Cameron JW Johnston JC. 1949. Nucellar seedlings. *Calif.Agric.* 3:9.

Cameron JW Soost RK. 1952. Size, yield and fruit characters of citrus propagated from young nucellar-seedling lines and parental old lines. *Proc. Amer. Soc.Hort.Sci.*60:255-64.

Claver FK. 1953. Factores que influyen en la incubación de la papa. *Turrialba* 3:32-34.

Claver FK Tizio R Montaldi ER.1957. Efecto degenerativo de las altas temperaturas durante la formación de tuberculos de papa. *Rev.Invest.Agric. M.A.N.* 11:209-14.



- Davidson LC. 1968. Changes in fiber and sucrose in CP 44-101, 1946-1966. *ISSCT Proc.*13:1013-17.
- Ford HW. 1953. Changes in rate of respiration and catalase activity associated with spreadind decline of citrus trees. *Proc.Amer.Soc.Hort.Sci.* 61:73-76.
- Frost HB. 1938. Nucellar embryony and juvenil character in clonal varieties of citrus. *J.Hered.* 29:423-32.
- Frost HB Cameron JW Soost RK. 1957. Diversity among nucellar seedling lines and parental old lines.*Proc.Amer.Soc.Hot.Sci.*60:247-54.
- Frost HB Cameron JW Soost RK. 1957. Diversity among nucellar seedling lines of Satsuma mandarin and differences from the parental old lines. *Hilgardia* 27:201-22.
- Hodgson RW Cameron SH.1938. Effect of reproduction by nucellar embryony on clonal characteristics in citrus. *Jour.Hered.* 29:417-19.
- Jinks JL 1959. Lethal suppressive cytoplasms in aged clones of *Aspegillus glaucus*. *Jour.Gen.Microbiol.*21:397-407.
- Knight TA. 1795. Observations on the grafting of trees.Phil.Trans. of the Royal Soc. London 2:290.
- Knight TA. 1824. Observation upon the effects of Age upon Fruit Trees of different Kinds; with an account of some new Varieties of Nectarines. *Transact.Horticult.Soc.*5:384-89.
- Marcou D. 1954. Sur la longevité des souches de *Podospora anserina* cultivées á diverses temperatures. *Compt.Rend.Acad.Sci. Paris* 1239 :895-97.
- Marcou D. 1961. Notion de longevité et nature cytoplasmique du determinant de la senescence chez quelques champignons. *Ann.Sc.Nat.* 12 Serie 2 :653-59.
- Martin F. 1952. La dégénérescence de la canne á sucre. *Rev.Indust.Agric.Aliment.* 69 :15-19.
- Minot CS. 1907. The problem of age, growth and death. *Pop.Sci.Monthly* 71:481-96.
- Molisch H. 1938. The longevity of plants. H.Fulling, N.Y.
- Osawa I. 1912. Cytological and experimental studies in citrus. Tokyo Imp.Univ.Col.*Agric.Jour.* 4:83-116.

Rasmussen, TP. 2003. Embryonic Stem Cells differentiation.: A chromatin perspective. *Reproduct.Biology and Endocrinology* 1:100 Licence Biomed Central Ltd. <http://www.rebej.com>. Content /1/1/100.

Rizet G.1942. Sur l'heredité d'un caractère de croissance et de pouvoir germinatif des spores dans une linée de l'Ascomycete *Podospora anserina*. *Bull.SocLin. Normandie* 2 :131-34.

Rizet G. 1953. Sur la longevité des souches de *Podospora anserina*. *Compt.Rend.Acad.Sci. Paris* 237 :1106-09.

Rizet G Marcou D Schecroun J. 1958. Deux phenomènes d'hereditécitoplasmique chez l'ascomycete *Podospora anserina*. *Bull.Soc.Fr.Physiol.Vég.* 4 :136-49.

Silverschmidt K. 1948.Acumulacao e movilizacao do amido em folhas de laranjeira atacada pela tristeza. *Rev. de Agric.* 24:295-322.

Sharpe HS. 1958. A closed system of cytoplasmic variation in *Aspergillus glaucus*.*Proc.Royal Soc. Ser. B* 148:355-59.

Sonneborn TM. 1957. Un episodio en las ciencias biológicas. *Rev.Soc.Mexicana Hist.Nat.* 18:139-51.

Sonneborn TM Scheller M. 1960. Physiological basis of aging in *Paramecium*. *Biol.Aging. Amer.Inst.Biol.Sci Symp.* Nº 6:283-84.

Tizio R. 1951. Efecto de las altas temperaturas como factor de degeneración de la papa. *Phyton* 1:69-89.

Tizio R.1962. La dégénérescence de la pomme de terre: effet de l'haute temperature et le virus X sur la variété Bintge. *Phyton* 18 :137-50.

Tizio R Montaldi ER.1953. Influencia de las altas temperaturas de almacenaje sobre la capacidad productiva de la variedad Huinkul. *Rev.Fac.Agron.La Plata* 29:133-48.

Trippi, VS Brulfert J.1973. Organization of the morphophysiological unit in *Anagallis arvensis* L. and relation with perpetuation mechanism and senescence. *Amer. J. Bot.*,60:951-955.

Trippi, VS Brulfert J. 1973. Photoperiodic aging in *Anagallis arvensis* L. clones: its relation to RNA content, rooting capacity and flowering. *Amer.J.Bot.*,60:641-647.

Trippi, VS. 1964. Studies on ontogeny and senility in plants. VII. Aging of the apical meristem, physiological age and rejuvenation in Tomato plants. *Phyton* 22:113-17.

Trippi, VS. 1982. Ontogenia y senilidad en plantas. 547pp. Dirección General de Publicaciones, Universidad Nacional de Córdoba, República Argentina.

Trippi VS Mesias R. 1958. Algunas diferencias bioquímicas y fisiológicas entre plantas sanas y presumiblemente enfermas con tristeza en citrus. *Rev. Indust. Agric. de Tucumán* 41:29-32.

Trippi VS. 1963. Studies on ontogeny and senility in plants. IV. Some enzyme activity at different stages of ontogeny and in clones from juvenile and adult zones of *Robinia pseudoacacia*. *Phyton* 20:160-66.

Trippi VS. 1965. Studies on ontogeny and senility in plants. IX. Clone behavior of *Vitis vinifera* var. Malbeck, in relation to senility. *Phyton* 22:35-39.

Trippi VS Montaldi ER. 1960. The aging of sugarcane clone. *Phyton* 14:79-91.

Wangermann E. 1965. Longevity and ageing in plants and plant organs. Enc. Plant Physiol. Rhuland Edit. Springer-Verlag 15:1026-57.

Wangermann E Ashby E. 1951. Studies in the morphogenesis of leaves. IX. Effect of light intensity and temperature on the cycle of ageing and rejuvenation in the vegetative life history of *Lemna minor*. *New Phytol.* 50:186-99.

Wangermann E Lacey J. 1953. Studies on the morphogenesis of leaves. IX. Experiments on *Lemna minor* with adenine, triiodobenzoic acid and ultraviolet radiation. *New Phytol.* 52:298-311.

Wangermann E Lacey J. 1955. Studies on the morphogenesis of leaves. X. Preliminary experiments on the relation between nitrogen nutrition, rate of respiration and rate of aging of fronds of *Lemna minor*. *New Phytol.* 51:182-98.