

69
2ej



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**"RESISTENCIA A LA SEQUIA XXX: ALTERACIONES
DE LA APERTURA ESTOMATAL Y LA
TRANSPIRACION, PRODUCIDAS POR EXTRACTOS
ACUOSOS DE PAPEL"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G O

P R E S E N T A :

LEONOR PATRICIA GARCIA MARTINEZ

México, D. F.

1991

FALLA EN GEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

RESUMEN

I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	
2.1 LA TRANSPIRACION VEGETAL	2
2.2 LOS ESTOMAS	3
2.3 LOS ANTITRANSPIRANTES	9
III. OBJETIVOS	24
IV. MATERIALES Y METODOS	25
V. RESULTADOS	32
VI. DISCUSION Y CONCLUSION	47
VII. BIBLIOGRAFIA	54
VIII. APENDICE	

RESUMEN

Se estudió el efecto de extractos acuosos de papel sobre la transpiración de Phaseolus vulgaris y Zea mays y la apertura estomatal de Commelina communis.

Los extractos acuosos de papel bond y envoltura se obtuvieron de la elución y filtración de papel picado en agua destilada.

Los extractos acuosos de papel bond fueron probados:

1. a) En el bioensayo de explantes de Phaseolus vulgaris cv. Cacahuete 72.
b) En el bioensayo de aspersiones en plantas intactas de Zea mays cv. H-28.
c) En el bioensayo de apertura estomatal en tiras de epidermis desprendida de Commelina communis.
2. Se probaron extractos acuosos con solución nutritiva en el bioensayo de explantes de P. vulgaris.
3. Se prepararon concentraciones de 100, 500 y 1000 ppm que se probaron en el bioensayo de la apertura estomatal de C. communis.

Los extractos acuosos de papel de envoltura (papel kraft) fueron probados:

1. En el bioensayo de explantes de P. vulgaris.
2. Se probaron extractos acuosos con solución nutritiva en el bioensayo de explantes de P. vulgaris.
3. Los extractos acuosos fueron puestos a ebullición y se probaron en el bioensayo de explantes de P. vulgaris.

Los extractos acuosos de papel bond causaron una reducción de transpiración de 30 % en P. vulgaris; un cierre estomatal significativo de 72 % en C. communis con los extractos acuosos y con la concentración de 100 ppm; una reducción de transpiración de 12 % con los extractos acuosos con solución nutritiva en P. vulgaris.

Los extractos acuosos de papel kraft causaron una reducción de transpiración de 23 % en P. vulgaris; una reducción de transpiración de 19 % con los extractos acuosos con solución nutritiva y una reducción de transpiración de 27 % con los extractos acuosos puestos a ebullición; estos efectos se observaron en los explantes de P. vulgaris.

I. INTRODUCCION

Los sembradíos de frijol en México se cultivan bajo condiciones de temporal casi en un 90 % del total, por lo que, las precipitaciones son determinantes en los rendimientos; el requerimiento mínimo de precipitación para el cultivo de frijoles de 400 mm, los cuales, deberían distribuirse de una manera uniforme a todo lo largo del ciclo de cultivo (Banco de México, 1982, en Nava, 1984).

Prácticamente el 99 % del agua que las plantas toman del suelo durante su ciclo de vida se pierde a través de la transpiración estomatal, los investigadores han prestado atención, desde hace algunos años, a reducir la velocidad de transpiración sin reducir la fotosíntesis, economizando agua e incrementando la eficiencia en su uso (Das y Raghavendra, 1979).

En la búsqueda de "antitranspirantes", que ayuden a las plantas a maximizar el uso de agua, se ha venido desarrollando desde el año de 1977 el proyecto de "Resistencia a la sequía" en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Colegio de Postgraduados de Chapingo, México a cargo del Dr. Alfonso Larqué Saavedra.

Durante la realización de una investigación incluida en este proyecto, analizando los efectos antitranspirantes de exudados filtrados de raíz de *Salix caprea*, se observó que con dichos exudados así como con el control de agua destilada, filtrado también, se presentaba cierto efecto antitranspirante en los explantes de frijol sobre los que se probaron. Se pensó entonces, que el efecto provocado por el control podría deberse a ciertas moléculas que se eluían del papel filtro al pasar el agua destilada a través de él.

El presente trabajo pretende determinar el efecto que sobre la transpiración y sobre la apertura estomatal pudieran tener extractos acuosos de papel, obtenidos de la elución en agua destilada de papel de uso común y de menor costo, como son el papel bond y el papel de envoltura (papel kraft).

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 La Transpiración vegetal.

Debido al intenso intercambio gaseoso que deben llevar a cabo las plantas para obtener el bióxido de carbono necesario para la fotosíntesis, cerca del 99% del agua absorbida por las plantas se pierde a través de la transpiración, que se define como la pérdida de agua de las plantas en forma de vapor, y solamente el 1% restante es utilizado en las diversas funciones de las mismas.

La transpiración es el factor dominante en las relaciones hídricas de las plantas, porque produce el gradiente de energía que provoca el movimiento del agua hacia adentro y a través de la planta (Trejo, 1981).

La transpiración se ve afectada por dos tipos de factores: los ambientales y los morfológico-anatómicos. Los primeros son, a) La humedad relativa de la atmósfera, cuanto más seco sea el aire del medio, mayor será el índice de transpiración. b) Los movimientos del aire, cuando está inmóvil permite la formación de una capa de aire húmedo cerca de la superficie de las hojas, disminuyendo el gradiente de difusión entre las hojas y la atmósfera y por ende la transpiración, el movimiento del aire provoca una mayor transpiración. c) La temperatura del aire, a mayor temperatura se aumenta el gradiente de difusión y transpiración. d) La intensidad de la luz, que está relacionada con la temperatura, al aumentar la intensidad aumenta la temperatura y con ella la transpiración. e) Las condiciones del suelo modifican la absorción de agua por las raíces, afectando también la transpiración (Weier, et al., 1979).

Dentro de los factores morfológico-anatómicos que les permiten a las plantas evitar la pérdida de agua se pueden citar: la presencia de una cutícula de cera sobre las hojas, tallos y frutos, estomas hundidos, la distribución de los mismos, la reducción de la superficie de transpiración, etc (Weier, et al., 1979).

Los sitios más importantes para la transpiración son las hojas y los estomas de la epidermis de las mismas son los que permiten a la planta conciliar las dos funciones con direcciones opuestas: la transpiración, observando el balance hídrico de la planta y la absorción del bióxido de carbono para la fotosíntesis.

2.2 Los Estomas.

El término estoma se refiere técnicamente solo a la apertura entre las dos células oclusivas, pero algunas veces este término es aplicado al aparato estomatal completo, que incluye a las dos células oclusivas y a la célula o células epidérmicas modificadas llamadas células accesorias o subsidiarias adyacentes a cada una de las células oclusivas (Salisbury y Ross, 1978).

Quizá las dos características más distintivas de las células oclusivas son su morfología y el espesor no uniforme de su pared. La forma típica de estas células en los estomas de las dicotiledóneas es la de riñón, mientras que en las monocotiledóneas tienden a ser más alargadas (en forma de teléfono, hueso o pesa). Los patrones de engrosamiento de las paredes celulares oclusivas varían entre las especies: las paredes inferior y superior de la vecindad del poro, están densamente engrosadas y la ventral es menos engrosada que las anteriores; mientras que la pared común de las células oclusivas y las subsidiarias es relativamente no engrosada; como lo son las demás paredes de las células subsidiarias (Palevitz, 1981).

Las células oclusivas poseen microfibrillas de celulosa (o tal vez también otros polisacáridos) en un arreglo especial alrededor de la circunferencia de las mismas, partiendo del centro del estoma; este arreglo es llamado "micelación radial" y le permite los movimientos que realiza el estoma (Salisbury y Ross, 1978). En las monocotiledóneas las microfibrillas tienen un arreglo axial.

Palevitz (1981) menciona también que las células subsidiarias influyen en la forma de las células oclusivas y que hay cambios de forma recíprocos entre estos dos tipos de células.

El agua es evaporada a través del parénquima empalizada y por los espacios intercelulares del parénquima esponjoso que se continúa con el aire atmosférico cuando los estomas están abiertos. El dióxido de carbono sigue el camino contrario. La apertura estomatal está al máximo cuando la planta no está completamente hidratada y hay suficiente luz; el cierre estomatal es provocado por cualquier déficit apreciable de agua o por el aumento de la concentración de dióxido de carbono (Mansfield, 1971).

El patrón de comportamiento completo de los estomas es un mecanismo eficiente en la protección de la planta contra una transpiración excesiva durante períodos de escasez de agua (Mansfield, 1971).

2.2.1 Respuestas de los Estomas a Factores Ambientales.

Los estomas responden cuando menos a siete factores ambientales: luz y oscuridad, cambios en el contenido de agua en la hoja, contenido de bióxido de carbono en el aire, temperatura, efectos mecánicos, cambios en pH y efectos iónicos (De León, 1979).

Mansfield *et al.* (1981) menciona que las respuestas al bióxido de carbono y a la luz se consideran juntas por contribuir al ciclo de apertura y cierre diario. Sin embargo, existe una respuesta al bióxido de carbono independiente de la luz y viceversa. Se ha aceptado que la luz y la eliminación del bióxido de carbono causan la apertura estomatal, provocada por la acumulación de iones de potasio en las células oclusivas. El cambio por el cual esta acumulación es iniciada por cada factor puede ser diferente. Cuando se ha iniciado la incorporación de iones de potasio, por la acción de uno de los factores, la acción del otro se vuelve innecesaria. Estos mismos autores también mencionan que un análisis de los factores que operan para producir la apertura en la luz, es por separado: 1) la eliminación de bióxido de carbono de la atmósfera interna de la hoja mediante la fotosíntesis en el mesófilo, 2) una acción de la luz azul que es independiente de 1) y que no necesariamente involucra a los cloroplastos y 3) un efecto de la luz que puede depender de la capacidad de generación de ATP de los cloroplastos de las células oclusivas.

Raschke (1975) haciendo un análisis de las respuestas y mecanismos de los estomas frente al bióxido de carbono y la presencia o ausencia de la luz, menciona que los estomas consiguen mantener constante el flujo de bióxido de carbono dentro de la hoja, probablemente manteniendo constante la concentración de éste cerca o en las células oclusivas. El nivel de bióxido de carbono intracelular dependerá de la distribución de la concentración del mismo en la vecindad inmediata a las células oclusivas, incluyendo el poro estomatal. Cuando la luz induce un incremento en la incorporación de bióxido de carbono por la hoja, la concentración intercelular declina. Los estomas tienden a mantener una concentración de bióxido de carbono intracelular constante por medio de un movimiento de apertura.

Los estomas empiezan a responder a cambios en la concentración de bióxido de carbono en un tiempo corto de aproximadamente 3 seg; pero la terminación de un movimiento de apertura lleva entre algunos minutos y una hora, dependiendo de la magnitud de la apertura final alcanzada. El sensor estomatal para el bióxido de carbono se localiza en las células oclusivas mismas, como fue probado por Mouravieff (1956 en Raschke, 1975). En suma, puede establecerse que los estomas responden al bióxido de carbono en condiciones luminosas y de oscuridad y que son manifestaciones del mismo mecanismo básico (Raschke, 1975).

Los estomas responden a la luz solo indirectamente cuando hay cambios en la

concentración de bióxido de carbono causados por la luz en la hoja, siendo también la apertura estomatal independiente de la dirección de la iluminación. A una concentración de bióxido de carbono intercelular igual, los estomas iluminados abren un poco más que aquellos en la oscuridad.

Si los estomas responden a la concentración de bióxido de carbono en las células oclusivas, están respondiendo al balance entre: a) el desprendimiento intracelular de bióxido de carbono; b) la difusión del bióxido de carbono dentro y fuera de las células oclusivas y c) el consumo de éste por la fotosíntesis y las carboxilaciones en la oscuridad (Raschke, 1975).

Las respuestas a las concentraciones de bióxido de carbono y a la luz siguen mecanismos de retroalimentación que sincronizan la apertura con la demanda en el mesófilo de bióxido de carbono (Raschke, 1975).

Hay evidencias de que la magnitud de la respuesta al cierre y apertura por bióxido de carbono varía entre las especies y dentro de una misma especie. Los estomas de algunas especies son insensibles al bióxido de carbono si el potencial de agua de la planta es alto, sin embargo, pueden ser sensibilizados aumentando el nivel de ácido abscísico en la hoja.

Puede sugerirse que hay una base común en el efecto de los tres factores involucrados naturalmente en la regulación de la turgencia de las células oclusivas (bióxido de carbono, intensidad luminosa y ácido abscísico). Su acción aparentemente afecta la acumulación de iones de potasio (Mansfield, *et al.*, 1981).

MacRobbie (1977 en Mansfield *et al.*, 1981) menciona que las células oclusivas tienen la capacidad de interrumpir la incorporación neta de iones, perdiendo turgencia y dando lugar al cierre estomatal.

Debido a la importancia del agua para las necesidades de la planta, la disponibilidad de este líquido es un factor determinante del comportamiento estomatal. Las células oclusivas ganan o pierden agua por intercambio con las células epidérmicas vecinas. Cuando las plantas están sujetas a la falta de agua por muchos días, el potencial de agua de la planta disminuye, los estomas son insensibles a reducciones en el potencial de agua a menos que el umbral de respuesta sea superado. La posición del umbral puede estar entre -7 y -18 atmósferas (Raschke, 1975). Pasado el umbral, los estomas cierran rápidamente y más o menos completamente durante el período de luz, influyendo en la respuesta estomatal a la densidad del flujo de fotones, a la temperatura, al bióxido de carbono y a la presión de vapor como factores que pueden producir la apertura estomatal (Davies *et al.*, 1981).

La sensibilidad de los estomas a la disminución en el potencial de agua de la hoja varía entre las especies y está influenciada por la edad y las condiciones de crecimiento de las plantas (Davies, 1977 en Davies, et al., 1981).

La disminución del potencial de agua está acompañada por una síntesis y aumento de la concentración del ácido abscísico (ABA) en la hoja. No se sabe si la síntesis del ácido abscísico es causada por este decremento, por una reducción de la turgencia o por el incremento en la concentración de una sustancia motivadora en un compartimiento celular. Se ha asumido que el ácido abscísico se sintetiza en el mesófito, probablemente en los cloroplastos (Milborrow, 1974 y Raiton, et al., 1974, en Raschke, 1975) y viaja de ahí al estoma donde evita la incorporación de R^+ en las células oclusivas y el agotamiento de almidón, o lleva a la pérdida de K^+ de las células oclusivas provocando el cierre estomatal. El efecto del ABA sobre los estomas es directo, no está mediado por un efecto en el aparato fotosintético, depende de la concentración en la corriente de transpiración y en la longitud del flujo de transpiración y no en las cantidades absolutas en la hoja (Raschke, 1975).

El comportamiento estomatal en respuesta a los demás factores (temperatura, estímulos mecánicos y pH), está relacionado con los cambios en la concentración de dióxido de carbono provocados por estos factores.

Las altas temperaturas (30-35° C) causan usualmente el cierre estomatal. En muchas plantas esta elevación de la temperatura ocasiona un incremento súbito de la concentración de dióxido de carbono dentro de la hoja, probablemente porque hay un mayor estímulo de la respiración que de la fotosíntesis, provocando el cierre estomatal (Mansfield, 1971).

La elevada temperatura del mediodía provoca en algunas plantas de climas cálidos un cierre que podría ser una desventaja en la asimilación de dióxido de carbono, pero suprime la tasa de transpiración en el momento que sería mas alta.

Un estímulo mecánico como es un manejo descuidado de las hojas provoca el cierre estomatal; no se conoce el mecanismo, pero se sabe que los disturbios mecánicos pueden estimular en ocasiones la respiración, alterando así la concentración de dióxido de carbono e induciendo el cierre estomático (Mansfield, 1971).

Cuando la concentración de dióxido de carbono es alta en la hoja, se produce una acidificación a través de la formación de malato (aunque el cambio en pH es pequeño para ser usado como control del metabolismo de las células oclusivas) (Raschke, 1975). Esta acidificación causaría la suspensión de la formación de malato.

El proceso de formación del malato involucra a la fosfoenolpiruvato carboxilasa,

esta enzima junto con la dehidrogenasa málica parece formar un sistema impulsor que ajusta el nivel intracelular de malato y el pH en alguna relación con la concentración intercelular de dióxido de carbono (Raschke, 1975). Este mecanismo pueda servir como el sensor del estoma al dióxido de carbono.

A pesar de que los estomas son muy sensibles a los factores ambientales, llevan también a cabo ritmos endógenos con una periodicidad de unas 24 horas (circadianos = cercano a un día). Estos ritmos dependen considerablemente del control endógeno y por su parte, el ambiente permite el ajuste fino de la apertura estomatal a las necesidades precisas de la planta, abriéndose los estomas en condiciones favorables y cerrándose en las desfavorables (Mansfield, 1971).

2.2.2 Mecanismo Estomatal.

El mecanismo completo de apertura y cierre de los estomas ha sido preocupación de los diversos investigadores, quienes han planteado diferentes teorías para explicar este complejo mecanismo.

La teoría clásica o de la fotosíntesis establece que la fotosíntesis iniciada por la luz en las células oclusivas reduce la concentración de dióxido de carbono, provocando un incremento del pH que promueve la reacción del almidón con fosfato, produciéndose así glucosa-1-fosfato que es convertida a glucosa-6-fosfato que a su vez se convierte en glucosa y fosfato. Esta acumulación de azúcares disminuye el potencial osmótico de estas células causando la entrada de agua por difusión, que incrementa la turgencia y provoca la apertura del estoma. Cuando se suspende la luz, se lleva a cabo la supresión de los eventos anteriores y se provoca el cierre estomatal.

La teoría hormonal involucra en el mecanismo de apertura y cierre al ácido abscísico, por haberse observado en repetidas ocasiones una relación entre los cambios de concentración de esta sustancia y los movimientos estomatales. Sin embargo, el ABA no es el único mecanismo que controla los movimientos estomatales y no está, probablemente, involucrado en los movimientos normales de apertura y cierre diarios de las plantas; sino que, el ABA puede estar involucrado en un síndrome completo de respuestas que contribuyen a la adaptación en un ambiente de agobio o tensión (stress) (Jones, 1978).

La incorporación de potasio en las células oclusivas, como parte del mecanismo de apertura, provee la primera evidencia clara que soporta la hipótesis de la acumulación de solutos para la apertura estomatal (teoría iónica), disminuyendo el potencial osmótico de las células oclusivas y dejando en segundo lugar de importancia la conversión de almidón a azúcar en el mecanismo de apertura (Fischer, 1968).

Esta incorporación de iones de potasio (K^+) ha sido observada por muchos autores (Yamashita, 1952; Fujino, 1959; 1960; 1967; Humble y Raschke, 1971 y Raschke y Fellows, 1971; en Raschke, 1975), y parece ser general, porque ha sido reportada para 50 especies.

Los movimientos estomatales parecen estar basados en un ir y venir de iones entre las células oclusivas y las células subsidiarias o las células epidérmicas adyacentes. Estas últimas parecen funcionar como almacén de iones para este intercambio.

Raschke (1975) menciona que si los iones de K^+ son incorporados pasivamente a las células oclusivas siguiendo un gradiente en el potencial eléctrico, el importe activo de Cl^- puede ser el mecanismo impulsor. Sin embargo, el Cl^- no constituye el anión más importante en las células oclusivas, sino que muchas de las cargas de K^+ están balanceadas por ácidos orgánicos, y la excreción de H^+ son los procesos activos responsables de, al menos, la incorporación de K^+ a las células oclusivas que no está acompañada por Cl^- . La excreción del ión hidrógeno de las células oclusivas es un proceso primario en la apertura estomatal, tal vez el más importante. Esta expulsión hace el interior de las células oclusivas más negativo y también más básico. Este aumento de pH citoplásmico causaría la producción de ácidos orgánicos, predominantemente, málico, que proveen H^+ para intercambiar por K^+ y aniones para balancear las cargas de K^+ en la vacuola. Los ácidos orgánicos de las células oclusivas son derivados del almidón lo que explica la desaparición del mismo durante la apertura y que lo contrario, es decir, el aumento de almidón y el decremento de malato, ocurre durante el cierre. El malato es sintetizado en las células oclusivas por la carboxilación del fosfoenolpiruvato PEP con la participación de la PEP carboxilasa, la dehidrogenasa málica y la NADP málica específica.

Los datos de diferentes experimentos sugieren que cuando los estomas están cerrados, al menos parte del carbono del malato es llevado a azúcares, presumiblemente via gluconeogénesis y el proceso involucra la descarboxilación del malato y durante ésta, parte del piruvato formado es cambiado por gluconeogénesis en almidón (Willmer, 1981). Puede haber también un flujo de malato entre las células oclusivas y las vecinas durante los movimientos estomatales.

La formación de malato a partir de almidón via PEP es exergónica, pero el transporte de malato a las vacuolas, así como la expulsión de H^+ y la incorporación activa de K^+ y Cl^- (si son activos), requiere ATP o equivalentes. Es necesaria la energía para mantener y transferir enzimas y acarreadores. La energía requerida para los movimientos estomatales parece venir de la fosforilación oxidativa, llevada a cabo en las mitocondrias de las células oclusivas (Raschke, 1975)

La capacidad de cierre de los estomas bajo condiciones de demanda evaporativa alta, o

de potencial de agua bajo, constituye el mecanismo primario para evitar la sequía en mesofitas y es probable que las "hormonas de stress" jueguen un papel importante en la determinación de las respuestas a ambientes extremos (Mansfield y Davies, 1979).

Sin embargo, los mecanismos estomatales de la planta para controlar sus funciones y sobre todo la transpiración no son suficientes, por lo que el reducir la pérdida de agua a través de otros medios, por un lado puede llevar a la planta a un alivio a la falta de agua y a disminuir los requerimientos de riego, donde lo hay, y por el otro a retener mayor cantidad de agua en los lugares donde el suministro de la misma está restringido a la temporada de lluvias.

Por esta razón es que se han venido haciendo investigaciones para encontrar sustancias químicas que actúan como antitranspirantes, reduciendo la tasa transpiratoria de las plantas al aplicarles dichas sustancias.

La búsqueda de compuestos antitranspirantes adecuados se ha basado en el estudio de las respuestas normales del estoma, las cuales aseguran la sobrevivencia de las plantas (Mansfield, 1978, en De León, 1979). Sin embargo, muchos de los compuestos probados hasta ahora pueden reducir la fotosíntesis además de la transpiración, y por consiguiente el desarrollo de la planta, es por esto que deben buscarse aquellos que no afecten el mecanismo fotosintético interno de la planta.

2.3 Los Antitranspirantes.

2.3.1 Definición.

Los antitranspirantes pueden definirse como sustancias químicas, sintéticas o de origen natural, que aplicados sobre las hojas de las plantas son capaces de reducir la tasa transpiratoria, es decir, reducen la pérdida de agua por la transpiración (Trejo, 1981).

Un antitranspirante ideal debe reducir la transpiración sin disminuir la fotosíntesis, no debe ser tóxico al metabolismo vegetal y ser de bajo costo.

Davenport *et al* (1969) y Das y Raghavendra (1979) atribuyen a los antitranspirantes diversos usos y ventajas como son:

- a) Conservar el agua del suelo y reducir la frecuencia de riego mejorando su eficiencia y su costo.
- b) Ayudar a la sobrevivencia de las plantas establecidas en situaciones de sequía.
- c) Incrementar la sobrevivencia de plántulas trasplantadas, evitando el "choque de trasplante" y mejorando el crecimiento posterior.
- d) Extender el intervalo de ambientes favorables para el crecimiento y la producción

de plantas sensibles a la falta de agua.

e) Reducir la muerte de invierno.

f) Tratar materiales vegetales para ser transportados.

g) Proveer una barrera en contra de hongos e insectos y el daño por contaminación y por sal.

h) Evitar que la excesiva transpiración concentre las sales en el suelo, con el consiguiente efecto sobre las plantas.

i) Numerosos usos potenciales que deben ser investigados.

Sin embargo, de todos los usos mencionados arriba, el que mas preocupa a los investigadores es el de conservar el agua del suelo, evitando la excesiva transpiración reduciendo así la frecuencia de riego o las necesidades de agua en el suelo.

Respecto a este último punto Das y Raghavendra (1979) mencionan que los antitranspirantes deben utilizarse como un complemento y no como un sustituto del buen manejo del agua. Y deberían ser usados, principalmente, en situaciones donde la sobrevivencia debida a la carencia de agua sea el problema crítico.

La duración del efecto del antitranspirante determina la frecuencia con que debe ser aplicado. Esta duración depende de la eficiencia y durabilidad del material, la efectividad en su aplicación, las condiciones ambientales y de la velocidad de crecimiento foliar de la planta después de la aplicación (Davenport, *et al.*, 1969).

2.3.2 Tipos de Antitranspirantes.

Los antitranspirantes pueden clasificarse de dos formas:

La primera divide a los materiales usados como antitranspirantes en dos categorías:

a) los antitranspirantes químicos que actúan directamente sobre la fisiología de los estomas, manteniéndolos parcialmente cerrados, reduciendo la pérdida de agua; b) los antitranspirantes físicos, cuya acción es mecánica, formando una película plástica o cerosa que impide el paso de vapor de agua a la atmósfera o materiales reflejantes que favorecen la reflexión de la energía por lo cual impiden el aumento de la temperatura en la hoja reduciendo la transpiración.

La segunda clasificación separa a los materiales antitranspirantes en tres categorías: 1) antitranspirantes metabólicos, que son químicos que inhiben o restringen total o parcialmente la apertura estomatal (afectando el metabolismo de las células oclusivas), disminuyendo así la pérdida de vapor de agua; 2) compuestos que forman una película, generalmente transparente, sobre la superficie de las hojas, creando una barrera física externa que retarda o impide el escape de vapor de agua, siendo emulsiones

de cera, latex, plásticos, etc.; y 3) materiales reflejantes que reducen la absorción de energía radiante, la temperatura de la hoja y la tasa de transpiración (Davenport, *et al.*, 1969; Das y Raghavendra, 1979 y Solárová, *et al.*, 1981).

2.3.3 Efecto de los Antitranspirantes.

2.3.3.1 Efecto de los Antitranspirantes Químicos o Metabólicos.

Solárová *et al.* (1981) menciona que los compuestos que disminuyen artificialmente la apertura estomatal (induciendo el cierre de los estomas o impidiendo su apertura) cambian la resistencia estomatal a la transferencia de vapor de agua, sin afectar la resistencia cuticular, ni la resistencia de la capa de frontera a la pérdida de vapor de agua, como lo hacen los compuestos formadores de película en la superficie de la hoja.

Los inhibidores de los movimientos estomáticos afectan las reacciones metabólicas responsables de los cambios en el potencial osmótico en las células oclusivas o la permeabilidad de sus membranas. Además, cualquier sustancia que interfiera la fotosíntesis o la respiración en el mesófilo, puede influir en la apertura estomatal, cambiando el balance de bióxido de carbono dentro de la hoja (Pomadasa, 1979 en Solárová *et al.*, 1981).

El mecanismo de acción a través del cual estos antitranspirantes metabólicos disminuyen la transpiración varía; muchos de los compuestos descubiertos son inhibidores de la fotofosforilación cíclica durante un período de tiempo variable, que sugiere una reducción de la transpiración por un lapso de tiempo considerable. Sin embargo la mayoría de ellos son tóxicos a las plantas o pueden afectar en gran medida la fotosíntesis, por lo que se hace necesario obtener materiales que influyan en los estomas solamente, sin ser tóxicos y que tengan un efecto duradero.

Los antitranspirantes metabólicos son de valor particular en donde la conservación del agua es el propósito primario, mientras que la tasa de crecimiento es de importancia secundaria (Das y Raghavendra, 1979).

2.3.3.2 Efecto de los Antitranspirantes Físicos.

Se han utilizado muchos materiales como silicones, polietilenos, ceras, etc., que forman una película, generalmente transparente, sobre las superficies de las hojas, para reducir la transpiración. Sin embargo, la mayoría de los polímeros formadores de película probados hasta ahora, son más permeables al vapor de agua que al bióxido de carbono,

esto se debe a que los coeficientes de solubilidad y de difusión de los gases son proporcionales a sus pesos moleculares y a que el agua tiene una masa molecular menor que la del dióxido de carbono, así su tasa de difusión es mayor que la de éste.

En una planta tratada con un antitranspirante que forma una película sobre las hojas, se incrementan las resistencias epidérmica y estomatal a la transferencia de vapor de agua. Sin embargo, debido a la baja permeabilidad al dióxido de carbono a través de la película antitranspirante, se produce también una reducción de la fotosíntesis.

La disminución de la transpiración y de la fotosíntesis es generalmente similar si aplicamos compuestos formadores de película sobre las hojas. Además, se ha observado que la aplicación de estos materiales puede producir una cobertura incompleta en las hojas, que provoca la concentración del intercambio gaseoso en los lugares sin cubrir. Por lo tanto, esta disminución se ve afectada también, por la proporción de superficies foliares cubiertas y no cubiertas (Solárová et al., 1981).

Por otro lado, y de acuerdo con el tipo de compuesto utilizado, se crea sobre las hojas una película de diferente espesor y en general, este espesor no es el mismo en la superficie foliar total. Por lo que, la proporción de cobertura es afectada por las propiedades del compuesto utilizado y por el método de aplicación.

Por todo lo anterior, es necesario encontrar un material con permeabilidad selectiva; que permita el paso del dióxido de carbono y obstruya el del vapor de agua. Además, que este material tenga otros atributos como son: baja toxicidad, distribución y adhesión uniformes, estabilidad bajo luz solar y durabilidad (Das y Raghavendra, 1979).

Es posible regular el intercambio gaseoso de las hojas afectando su balance de energía con la aplicación de materiales reflejantes. La aplicación de un pigmento reflejante en las hojas, que selectivamente refleje las radiaciones menores de 0.4 y mayores de 0.7 micras (y transmita la radiación intermedia) podría incrementar la reflexión foliar, esto llevaría a una reducción de la energía tomada, a una temperatura foliar menor y así, a la disminución de la transpiración (Poljakoff, Mayber y Gale, 1972 en Das y Raghavendra, 1979).

Los materiales más usados como antitranspirantes reflejantes incrementan la reflexión, causando el enfriamiento de las hojas, disminuyendo así, la diferencia entre la densidad de vapor de agua de las cavidades subestomáticas y la del exterior de las hojas siendo ésta la causa principal de reducción de la transpiración (Solárová et al., 1981).

Sin embargo no se conocen materiales reflejantes con esta selectividad, que además cubran los otros requerimientos señalados.

Los materiales reflejantes además de disminuir la transpiración, previenen el sobrecalentamiento de las hojas que podría afectarlas, pero también, puede haber una reducción de radiación neta recibida y podría disminuirse la fotosíntesis: por lo que, estos antitranspirantes podrían ser apropiados para cultivos cuya fotosíntesis requiere intensidades de luz relativamente bajas, o en regiones de sequía de áreas tropicales y subtropicales en donde la radiación solar es óptima para saturar la fotosíntesis, pudiendo incrementar así, la eficiencia de uso de agua de las plantas (Patil y De, 1969; Agarwal y De, 1979 en Solárová *et al.*, 1981).

2.3.4 Principales Antitranspirantes.

En la búsqueda de antitranspirantes realmente efectivos, se han probado una cantidad diversa de materiales, en los cuales, se busca que cumplan con las condiciones de un antitranspirante ideal de acuerdo a las características ya mencionadas anteriormente.

2.3.4.1 Antitranspirantes Metabólicos

Se han estudiado las aplicaciones del dióxido de carbono como antitranspirante, porque el incremento en la concentración de dióxido de carbono cierra los estomas reduciendo la transpiración e incrementa la tasa de fotosíntesis, debido al gradiente excesivo de difusión de dióxido de carbono dentro de la hoja. Sin embargo, a pesar de los buenos resultados obtenidos en el invernadero y a que parece comportarse como un antitranspirante ideal, no es posible la aplicación práctica de este gas en el campo.

Tomando en cuenta que las plantas son capaces de responder a los estímulos ambientales y sobre todo, como un mecanismo primario, responden a la falta de agua mediante el cierre parcial o total de sus estomas, se ha buscado el mecanismo por el cual obtienen esta respuesta. En 1969 Wright (en Jones y Mansfield, 1970) reportó un incremento en el llamado "inhibidor" contenido en hojas de trigo después de un período de marchitamiento y sugirió que el incremento de esta sustancia podría ser el regulador de la supresión de los procesos fisiológicos que ocurren después de una tensión de agua; anteriormente en 1967 Milborrow (en Jones y Mansfield 1970) llegó a la conclusión de que el ácido abscísico (ABA) podría ser el principal componente del "inhibidor".

Wright y Hiron (1969) mostraron que el ABA se incrementa en las dos primeras horas del período de marchitamiento y que tanto el aumento de la temperatura como la anegación causan respuestas similares a las que causa la falta de agua en las plantas. El ABA previene la apertura y causa el cierre estomatal. La respuesta puede ocurrir en pocos minutos y es reversible en un lapso de tiempo corto.

La concentración de ABA en las plantas varía considerablemente de especie a especie, de órgano a órgano y dentro del mismo órgano a diferentes edades y condiciones fisiológicas. Un incremento de ABA durante el agobio de agua es regulado probablemente de diferentes maneras en diferentes tejidos (Milborrow, 1981).

La falta de agua en las plantas provoca que el potencial de agua de las mismas cambie, encontrándose que los valores de potencial de agua entre -0.5 y -1.0 MPa son críticos y provocan que el contenido de ABA en las hojas sea inversamente proporcional al potencial de agua; esto ha sido probado por varios autores (Zabedal, 1974; Beardseil y Cohen, 1975; Wright, 1977 en Milborrow, 1981).

Las variaciones en las cantidades de ABA en las hojas están más ligadas a los cambios de turgencia que a los cambios en el potencial de agua de las plantas (Davies et al., 1981). Cuando la turgencia es elevada en la hoja, la producción de ABA se mantiene en niveles bajos y solamente después de que en el ciclo de sequía, cuando el potencial de agua y la turgencia foliar han caído a valores bajos y potencialmente dañinos, ocurre una síntesis de ABA que promueva el cierre estomatal completo.

Solárová et al. (1981) señala que uno de los papeles del ABA en la apertura y cierre estomatal es el de mensajero de un circuito de retroalimentación que controla la pérdida de agua. Milborrow (1974) citado por Davies et al. (1981) encontró que los sitios principales de formación de ABA son los cloroplastos; aunque en las hojas existen muchos depósitos de ABA y la cantidad activa para los movimientos estomatales representa una pequeña proporción del ABA total presente en la hoja.

Bajo agobio hídrico ocurre un incremento en la permeabilidad de la membrana del cloroplasto al ABA facilitando así su paso hacia el citosol. La concentración de ABA en los cloroplastos disminuye y se produce la síntesis.

La cantidad de ABA producida por una planta durante el agobio de agua, depende de la intensidad y duración del mismo, así como, de la propia capacidad de la planta para la síntesis de ABA (Solárová et al., 1981). Se ha encontrado un incremento hasta de cuatro veces la cantidad de ABA para algunas plantas en agobio hídrico y de tres veces en las mismas condiciones para otro tipo de plantas. Sin embargo, los estomas son sensibles a cambios modestos en la concentración de ABA. El doble del contenido endógeno de ABA es suficiente para inducir el cierre estomatal y el 50 % es suficiente para iniciar el cierre. Hay correspondencia entre el cierre y el aumento de ABA (Milborrow, 1981).

Cuando las hojas recuperan su turgencia, los cloroplastos se vuelven impermeables al ABA aumentando la concentración en éstos que inhibe la síntesis. En el citosol se produce la degradación del ABA liberado y la concentración empieza a caer, pero generalmente, mas lentamente que cuando aumentó.

Solárová *et al.* (1981) señala que el mecanismo de acción preciso del ABA se desconoce aún, pero que parece ser que el ABA disminuye el potencial osmótico de las células oclusivas, debido a la inhibición del flujo de K^+ (lo mismo es reportado por Itai *et al.*, 1978 y Milborrow, 1981), además, disminuye también la hidrólisis de almidón. Raschke (1975) menciona que el ABA bloquea reversiblemente la excreción activa de H^+ de las células oclusivas. Puede causar también, la inhibición de la fotosíntesis cíclica en los cloroplastos de las células oclusivas, removiendo así, la energía para la incorporación de K^+ (Raghavendra, 1976 y Prokhorjuk, 1977 en Solárová *et al.*, 1981).

La ventaja principal del ABA como antitranspirante es la inhibición específica de la apertura estomatal, con un mínimo efecto negativo directo en el aparato fotosintético. El ABA aplicado en la superficie foliar influye solamente en los estomas de ésta y no es transferido a otras partes de la planta.

Se han realizado diversos experimentos aplicando externamente el ABA, como antitranspirante para reducir la transpiración y también se han investigado los posibles efectos que podría tener sobre el metabolismo vegetal.

Jones y Mansfield (1970) aplicaron ABA en las superficies de las hojas de *Xanthium pennsylvanicum* a una concentración de 10^{-4} M, causando una disminución significativa de la apertura estomatal, y señalan que este cierre inducido por ABA no es el resultado de un incremento en la concentración de dióxido de carbono en los espacios intercelulares. La supresión de la apertura persistió cinco días después de la aplicación.

Tucker y Mansfield (1971) aplicaron concentraciones de ABA de 10^{-4} a 10^{-9} M a tiras de epidermis desprendida de *Commelina communis* L. y encontraron que a mayor concentración de ABA el cierre estomatal fue progresivamente mayor y mencionan que el ABA no inhibe químicamente la fotosíntesis del mesófilo.

Se han hecho también experimentos en donde se somete a las plantas a condiciones desfavorables para encontrar su respuesta con respecto al ABA.

Cuando las plantas son sometidas a aire caliente o son inundadas, los niveles de ABA se incrementan rápidamente, llevando a un cierre estomatal (Hiron y Wright, 1973).

El agobio salino que induce un marchitamiento incipiente, así como la carencia de minerales causan un aumento en el contenido de ABA en las hojas (Milborrow, 1981).

Otros efectos causados por el ABA como fitoregulador son:

- Reducción del área foliar, senescencia de las hojas, reducción en la proporción de células epidérmicas que forman el estoma e incremento de la producción de pelos epidérmicos que también son síntomas del agobio hídrico (Jones, 1978).

- En las raíces, estimula el flujo de volumen de agua y el flujo de iones a través de las raíces; así como, incrementa el desarrollo de las mismas y limita la extensión de la hoja (Davies *et al.*, 1961).

- Disminución del tamaño celular en el tallo de trigo, disminución del número de estomas por hoja e incremento de la formación de tricomas (Solárová *et al.*, 1981).

De acuerdo con los experimentos llevados a cabo por Hiron y Wright (1973) el ABA produce cierta adaptación a la tensión, ya que encontraron que los contenidos endógenos de ABA no regresaron al nivel original después de cada recuperación y que a cada ciclo de marchitez-recuperación, la marchitez llegó a ser progresivamente menos severa.

Las propiedades que tiene el ABA y que deben de buscarse en otros compuestos para poder ser utilizados como antitranspirantes son:

1. Provocar el cierre de los estomas sin dañar a las células oclusivas.
2. Actuar en forma directa sobre la apertura estomatal y
3. Causar el cierre estomatal a través de la salida de iones K^+ de las células oclusivas (De León, 1979).

Se han llevado a cabo una gran cantidad de experimentos para probar como antitranspirantes diversas sustancias, entre las que destacan: el acetato de fenilmercurio (PMA), el ácido NN-dimetilaminosuccinámico (B-9), el farnesol, el ácido acetilsalicílico (ASA), el ácido clorogénico; así como, muchos reguladores de crecimiento, etc.

El acetato de fenilmercurio (PMA) ejerce su acción antitranspirante sobre el componente proteico de las membranas de las células oclusivas afectando el transporte de K^+ . El PMA es inhibidor del transporte electrónico, de la reducción de NADP y de la fotofosforilación, entre otros procesos; puede reducir también el contenido de clorofila en las hojas (Waisei *et al.*, 1969 en Solárová *et al.*, 1981). Por lo tanto, puede reducir la apertura estomatal mediante el bloqueo de la fotosíntesis y así, la acumulación del bióxido de carbono respiratorio; o por la eliminación de la energía necesaria para la incorporación de K^+ .

Para la aplicación del PMA se debe elegir la concentración y el método de aplicación adecuados, que logren impedir la apertura estomatal, evitando la fitotoxicidad y sobre todo, el daño al aparato fotosintético, aunque esto puede depender de la especie, debido a las diferencias de sensibilidad entre las especies. Davenport *et al.* (1969) señala que las concentraciones óptimas pueden variar entre 10^{-4} M (como diluida) y 10^{-3} M (como alta) dependiendo de la especie.

Orton y Mansfield (1976) hicieron un estudio sobre el mecanismo, por el cual el ácido NN-dimetilaminosuccinámico (daminozido o B-9) afecta la apertura estomatal, encontrando que en tiras de epidermis desprendida de *Commelina communis* la apertura estomatal se reduce entre un 50 % y un 10 % de acuerdo con la concentración cada vez mayor, pero que este efecto puede anularse en aire libre de dióxido de carbono. Encontraron un efecto parecido en plantas intactas de *Xanthium strumarium*. El B-9 inhibe la apertura estomatal en aire normal y el cierre se invierte en aire libre de dióxido de carbono.

Por otro lado, se ha encontrado que en las concentraciones altas de B-9 el efecto no es reversible en aire libre de dióxido de carbono, porque hay una inhibición severa de la respiración, bloqueando el suministro de energía necesaria para la apertura y además, existe un daño celular en las células subsidiarias y epidérmicas. Orton y Mansfield (1976) afirman, finalmente, que B-9 no puede ser visto como un antitranspirante de valor real, ya que causa el cierre estomatal incrementando la concentración interna de dióxido de carbono por una disminución en la tasa de fotosíntesis o a un incremento en la respiración, que desacopla la fosforilación oxidativa y estimula la incorporación de oxígeno mitocondrial y este modo de acción no incrementa la eficiencia de uso de agua.

Ogunkanmi *et al* (1974) encontraron en plantas de sorgo sujetas a agobio hídrico, un sesquiterpenoide altamente activo en inducir el cierre estomatal con "efecto antitranspirante", el trans-farnesol, que ha sido reportado también por Jones (1978).

En los experimentos llevados a cabo por Wilson y Davies (1979), en líneas de sorgo y maíz resistentes a sequía, encontraron que durante el cierre estomatal los niveles de farnesol se incrementaron de acuerdo a la disminución del potencial de agua, actuando el farnesol como antitranspirante. El incremento en el maíz fue de siete a diez veces mayor que el de las dos líneas resistentes de sorgo, influyendo en el crecimiento posterior al riego de recuperación, por lo que estas dos líneas de sorgo son más tolerantes que la de maíz, debido a su capacidad de cerrar parcialmente los estomas al principio del período de sequía, lo que les permite una mayor eficiencia de uso de agua y un período de supervivencia mayor bajo estas circunstancias.

Mansfield *et al* (en Wilson y Davies, 1979) han postulado que los cambios en el nivel de farnesol pueden ser responsables de la liberación de ABA almacenado en los cloroplastos del mesófilo de plantas que se encuentran en condiciones de agobio hídrico. La duración de la agobio hídrico y del nivel endógeno de farnesol, causa el cierre estomatal alterando la permeabilidad de la membrana del cloroplasto.

El farnesol cambia la permeabilidad de la membrana de las células oclusivas y afecta directamente el movimiento de los solutos. Las aplicaciones externas en hojas de sorgo disminuyen la conductancia epidérmica para el vapor de agua y, consecuentemente,

la transpiración y parte de la fotosíntesis neta (Solarova *et al.*, 1981).

Se han probado diversas concentraciones del ácido acetilsalicílico (ASA) como antitranspirante, ya que se conoce la presencia de este compuesto en las plantas, sin habersele adjudicado ninguna función fisiológica. Larqué-Saavedra (1978) encontró que la concentración de 10^{-3} M del ASA reduce la transpiración de explantes de Phaseolus vulgaris L. en un 43 % con respecto a un control de agua destilada y que dicha concentración y la del ABA 5×10^{-5} M tienen un comportamiento muy similar, que, después de diez horas de tratamiento, reducen la pérdida de agua en 48 %.

Parece ser que el ASA afecta los niveles internos de bióxido de carbono en la hoja y de este modo induce el cierre estomatal; puede interferir también en la fosforilación oxidativa y estimular la respiración subcelular.

Posteriormente el ASA fue probado en Commelina communis L. por De León y Larqué-Saavedra (1979) en amoniguadores PIPES y citrato 10 mM a pH 5.5, encontrando que incrementaron la apertura estomatal y solo ASA 10^{-2} M en MES 10 mM + KCl 50 mM disminuyó la apertura inicial más del 50 % con cierto daño celular, en comparación con el ABA que disminuyó la apertura en un 60 % sin daño aparente.

Otros efectos del ácido salicílico sobre la fisiología de las plantas son que: induce la floración de Xanthium y Lemna; reduce la floración de Pharbitis; elimina los requerimientos de luz en Lemna e inhibe el crecimiento de la raíz y del coleóptilo en trigo.

Se han probado algunos reguladores del crecimiento como antitranspirantes y se encontró que, por ejemplo, cumarina (a concentración 6.1×10^{-5} M), xantina (3.75×10^{-4} M) y escopoletina (10^{-3} y 10^{-4} M) no tienen un efecto significativo sobre la transpiración; mientras que, el ácido clorogénico a la concentración 10^{-3} M indujo un cierre estomatal parcial, sin que la concentración 10^{-4} M haya tenido algún efecto (Ogunkanmi *et al.*, 1973).

Tucker y Mansfield (1971) probaron el ácido indolacético, el ácido giberélico y la quinolina en concentración 10^{-3} a 10^{-8} M sin obtener efecto significativo sobre la apertura estomatal en tiras desprendidas de C. communis L. Sin embargo, encontraron que por otro lado, un fungicida (fusiococin), en concentración 10^{-5} M causó un incremento significativo de la apertura estomatal, en comparación con el control; Raschke (1975) menciona que el fusiococin actúa como una bomba adicional a la de H^+ , estimula el crecimiento y supera la acción inhibitoria de ABA sobre el estoma, estimulando la salida de H^+ .

2.3.4.2 Antitranspirantes Formadores de Película.

El número de sustancias que se han probado como antitranspirantes formadores de película, rebasa al número de antitranspirantes metabólicos. La mayoría de los antitranspirantes de película son sustancias químicas fabricadas comercialmente y que tienen otros usos específicos.

La tabla siguiente ejemplifica una gran parte de los materiales empleados como antitranspirantes y muestra las plantas sobre las cuales fueron evaluados.

TABLA I. PRINCIPALES ANTITRANSPIRANTES.

(Modificada de Solárová *et al.*, 1981 y Das y Raghavendra, 1979).

Antitranspirantes Metabólicos.

Compuesto	Planta Probada	Referencia
Acetato de Fenilmercurio (PMA)	Tabaco	Zelitch & Waggoner 1962; Shimshi 1963
	Algodón	Slatyer & Bierhuizen 1964
	<u>Festuca rubra</u>	Davenport 1967
	<u>Sorghum bicolor</u>	Sij <i>et al</i> 1972
	<u>Vitis vinifera</u>	
(PMA)	<u>Citrus sinensis</u>	Bravdo 1972
	<u>Zea mays</u>	
	<u>Glycine max</u>	Palis <i>et al</i> 1972
Acido abscísico (ABA)	Cebada	Mittleheuser & Van Stenemick 1969 Jones & Mansfield 1970 Mizrahi <i>et al</i> 1974 Raschke 1974
	<u>Xanthium strumarium</u>	
	<u>Fraxinus americana</u>	
	<u>Pinus resinosa</u>	Davies & Kozlowski 1975
	<u>Commelina communis</u>	
	<u>Xanthium strumarium</u>	Sharkey & Raschke 1980
Acido alkenilsucínico	Tabaco	Zelitch 1964

Compuesto	Planta Probada	Referencia
Acido n-2-decenil-succínico	<u>Beta vulgaris</u> <u>Phaseolus vulgaris</u>	Van Oorschot 1974
Acido dihidrofa-seico	<u>Commelina communis</u> <u>Vicia faba</u> <u>Xanthium strumarium</u>	Sharkey & Raschke 1980
Acido esteárico	<u>Zea mays</u> <u>Glycine max</u>	Palis <u>et al</u> 1972
Alcohol estearil	<u>Zea mays</u> <u>Glycine max</u>	Palis <u>et al</u> 1972
Acido faseico	<u>Commelina communis</u> <u>Vicia faba</u> <u>Xanthium strumarium</u>	Sharkey & Raschke 1980
Alachlor	Maíz	Santakumari <u>et al</u> 1977
Cetil alcohol	<u>Zea mays</u> <u>Glycine max</u>	Palis <u>et al</u> 1972
2-cloromercurio-4, 6-dinitrofenol	<u>Datura arborea</u>	Raghavendra & Das 1977
Daminozido	Tomate	Mishra & Pradhan 1972
2,4-dinitrofenol	<u>Datura arborea</u>	Raghavendra & Das 1977
Dióxido de carbono	Trigo Maíz	Heath & Russell 195 Moss <u>et al</u> 1961
8-hidroxiquinolino sulfato	Fresa	Stoddard & Miller 1962
Famesol	<u>Sorghum bicolor</u>	Fenton <u>et al</u> 1977
Morfactina	Algodón	Das <u>et al</u> 1977
Salicilaldoxima	<u>Datura arborea</u>	Raghavendra & Das 1977

Antitranspirantes Formadores de Película.

Compuesto	Planta Probada	Referencia
A-C-3 (emulsión de polietileno)	<u>Phaseolus vulgaris</u>	Gale & Poljakoff-Mayber 1967
Adol 52 (alcoholes)	<u>Gossypium hirsutum</u>	Slatyer & Bierhuizen 1964
Clear Spray (látex)	<u>Fraxinus americana</u>	

Compuesto	Planta Probada	Referencia
	<u>Pinus resinosa</u> <u>Zea mays</u> <u>Glycine max</u>	Davies & Kozlowski 1974 Palis et al 1972
CS-6432 (emulsión de cera-látex)	<u>Beta vulgaris</u> <u>Nerium oleander</u> <u>Fraxinus americana</u> <u>Pinus resinosa</u>	Davenport et al 1974 Davies & Kozlowski 1974
Dow XF-4-3531 (emulsión de silicón)	<u>Fraxinus americana</u> <u>Pinus resinosa</u>	Davies & Kozlowski 1974
Folicote (emulsión de cera)	<u>Fraxinus americana</u> <u>Pinus resinosa</u> <u>Zea mays</u> <u>Glycine max</u>	Davies & Kozlowski 1974 Palis et al 1972
Foli-gard	<u>Zea mays</u> <u>Glycine max</u>	Palis et al 1972
Improved Wilt Pruf	<u>Fraxinus americana</u> <u>Pinus resinosa</u>	Davies & Kozlowski 1974
Keykote (emulsión de cera plástica)	<u>Fraxinus americana</u> <u>Pinus resinosa</u> <u>Zea mays</u> <u>Glycine max</u>	Davies & Kozlowski 1974 Palis et al 1972
Mobileaf (emulsión de cera en agua)	<u>Elymus canadensis</u> <u>Beta vulgaris</u>	Anderson & Kreith 1978 Davenport et al 1974
Mobile RD 9 (cera plástica)	<u>Zea mays</u> <u>Glycine max</u>	Palis et al 1972
Neddle fast (látex y PMA)	<u>Zea mays</u> <u>Glycine max</u>	Palis et al 1972
S-789 TAG 16 (emulsión de polietileno)	<u>Phaseolus vulgaris</u> <u>Vitis vinifera</u>	Gale 1961

de polietileno)	<u>Vitis vinifera</u>	
	<u>Citrus sinensis</u>	Bravdo 1972
Vapor gard	<u>Fraxinus americana</u>	
	<u>Pinus resinosa</u>	Davies & Kozlowski 1974
	<u>Malus domestica</u>	Weller & Ferree 1978
Wilt Pruf NCF	<u>Fraxinus americana</u>	Davies & Kozlowski 1974
XF-4-3531 (emulsión		
de silicón)	<u>Fraxinus americana</u>	
	<u>Pinus resinosa</u>	Davies & Kozlowski 1974

Se ha encontrado que los antitranspirantes formadores de película son menos tóxicos y tienen períodos mas largos de efectividad que los antitranspirantes metabólicos (Anderson y Kreith, 1978). Sin embargo, muchos investigadores señalan que, cuando se aplican antitranspirantes de película se reduce la transpiración y la fotosíntesis en magnitud similar, debido a que la mayoría de los polímeros formadores de película son, al menos cuatro veces mas permeables al vapor de agua que al bióxido de carbono y además, se presenta una cubierta parcial de la superficie foliar (Davies & Kozlowski, 1974).

2.3.4.3 Antitranspirante Reflejantes.

La radiación solar provee toda la energía usada en la producción de biomasa y la evapotranspiración de las superficies de las plantas, así como, mucha de la información que controla su desarrollo (Stanhill *et al.*, 1976). La aplicación de un antitranspirante reflejante puede regular el intercambio gaseoso de las hojas afectando su balance de energía; Gale y Hagan (1966, en Moreshet *et al.*, 1977) sugirieron que, un incremento en la reflectividad foliar de plantas que crecen en condiciones normales de saturación de luz, reduce significativamente su transpiración sin causar una reducción correspondiente significativa en la tasa de fijación de bióxido de carbono.

Los materiales que han sido probados como antitranspirantes reflejantes son: la caolinita en Citrus sinensis, Ficus elastica y Phaseolus vulgaris por Abou - Khaled *et al.* (1970, en Moreshet *et al.*, 1977) quienes encontraron que a niveles altos de intensidad luminosa, el incremento significativo de la reflectividad causó una reducción inmediata y marcada en la tasa de transpiración, sin ninguna reducción en la tasa de fijación de bióxido de carbono; y el caolín probado Sorghum bicolor en un extenso estudio llevado a cabo por Stanhill *et al.* (1976) y Moreshet *et al.* (1977) durante tres años, determinando

su efecto sobre la transpiración y el rendimiento de las plantas. Encontraron que la incorporación de bióxido de carbono de las hojas asperjadas con caolín fue menor que la de las no asperjadas; por esta reducción debe postularse, que el caolín causa un deterioro, no especificado, del aparato fotosintético y por lo tanto, el incremento del rendimiento del grano no puede atribuirse al efecto del tratamiento sobre la fotosíntesis, sino que, parece ser que el caolín mejora la tasa de traslocación de las hojas senescentes hacia el grano en desarrollo por una cantidad mayor que la reducción en el curso de incorporación de bióxido de carbono. Estos autores concluyen que el pequeño incremento en la resistencia foliar no puede ser tomado como evidencia de que el caolín actúa como un antitranspirante, bajo condiciones de campo, así, la tasa de transpiración no fue afectada sensiblemente por el blanqueo de las hojas.

2.3.4.4 Compuestos Naturales Usados como Antitranspirantes.

En la búsqueda de antitranspirantes se han hecho muchas investigaciones para encontrar antitranspirantes entre los compuestos naturales, aparte del ABA y del ácido clorogénico que ya se conocen. Ogunkanmi *et al.* (1973) señalan que es necesario entonces, un examen de los extractos de plantas (especialmente aquellas sujetas a agobio hídrico) para encontrar una actividad antitranspirante.

Larqué-Saavedra y Soto (1986) probaron el efecto de exudados de raíz de estacas de Salix caprea sobre la transpiración de explantes de Phaseolus vulgaris y sobre la apertura estomatal de Commelina communis, encontrando que los exudados provocaron una reducción en la transpiración en 15 % y en 70 % en la apertura estomatal sobre los controles; sin determinar el tipo de molécula que lo causa o si se debe a la acción de microorganismos.

El presente trabajo se suma al proyecto de "Resistencia a la sequía" en la búsqueda de "antitranspirantes", que ayuden a las plantas a maximizar el uso de agua.

III. OBJETIVOS

Determinar el efecto de extractos acuosos de papel sobre la transpiración de explantes de Phaseolus vulgaris cv. Cacahuete 72 y de plantas intactas de Zea mays H-28

Determinar el efecto de extractos acuosos de papel sobre la apertura estomatal en tiras de epidermis desprendida de Commelina communis.

IV. MATERIALES Y METODOS.

4.1. Obtención de los extractos.

Los extractos acuosos se obtuvieron a partir de la elución de papel comercial de dos tipos: a) hojas de papel para máquina de escribir papel bond, 36 kg Yoko bond, (Kimberly Clark de Mex. S.A. de C.V.) y papel de envoltura (papel kraft 125 gr y 76 cm de ancho).

El papel se cortó en pedazos pequeños, evitando una manipulación excesiva del mismo, para obtenerlo sin contaminación.

El papel así picado, se puso en agua destilada, con una proporción de 1:10, es decir, se colocaron 100 gramos de papel en un litro de agua destilada, durante siete días, a una temperatura de 4°C. Después de transcurrido este tiempo, se filtró la solución utilizando papel filtró Whatman # 5 y con vacío. Los extractos acuosos obtenidos de esta filtración, se colocaron en frascos ámbar y también se guardaron a una temperatura de 4°C.

Se determinó el pH de las soluciones y de los controles por medio de un potenciómetro (TOA-pH meter model HM-5B, TOA Electronics LTD, Japan).

4.2. Pruebas a las que se sometieron los extractos de papel.

4.2.1. Extractos acuosos de papel bond.

Los extractos acuosos obtenidos de la filtración como se indicó anteriormente se probaron en tres bioensayos diferentes (los que se describen mas adelante).

a) Bioensayo de explantes de Phaseolus vulgaris cv. Cacahuete 72, realizándose 5 experimentos independientes.

b) Bioensayo de aspersiones en plantas intactas de Zea mays cv. H-28, llevándose a cabo 2 experimentos independientes.

c) Bioensayo de apertura estomatal en tiras de epidermis desprendida de Commelina communis, se realizaron 4 experimentos independientes; en este caso los extractos se centrifugaron durante 20 minutos.

4.2.1.1. Extractos acuosos con solución nutritiva.

Se preparó una solución nutritiva (Tabla II del apéndice) con una concentración diez veces mayor a la indicada, de la cual se tomaron alícuotas para diluir con agua destilada para los controles y diluida con los extractos acuosos de papel para los tratamientos. Estos extractos con solución nutritiva se probaron en el bioensayo de explantes de P. vulgaris realizándose 3 experimentos independientes.

4.2.1.2. Extractos acuosos liofilizados.

Los extractos acuosos se liofilizaron hasta sequedad y se prepararon concentraciones de: 1000, 500 y 100 ppm (partes por millón); que se probaron en el bioensayo de la apertura estomatal en tiras de epidermis desprendida de C. communis, se realizaron 9 experimentos independientes.

4.2.2. Extractos acuosos de papel de envoltura (papel kraft).

Se realizaron 5 experimentos independientes con los extractos acuosos obtenidos de la filtración con papel Whatman # 5 y vacío. Se realizaron también 3 experimentos con los extractos acuosos obtenidos de una filtración lenta con este papel filtro, pero sin vacío. Estos experimentos se probaron en el bioensayo de explantes de P. vulgaris.

4.2.2.1. Extractos acuosos de papel de envoltura con solución nutritiva.

Estos extractos con solución nutritiva se obtuvieron como se describió anteriormente (4.2.1.1.) para los extractos de papel bond. Los extractos de papel kraft con solución nutritiva se probaron en el bioensayo de explantes de P. vulgaris, realizándose 3 experimentos independientes.

4.2.2.2. Extractos acuosos de papel de envoltura puestos a ebullición.

Los extractos acuosos fueron puestos a ebullición a fuego directo durante 5 minutos a $94 \pm 2^\circ\text{C}$, que se aforaron con agua desionizada a su volumen inicial. Dichos extractos se probaron en el bioensayo de explantes de P. vulgaris efectuándose 1 experimento independiente.

PAPEL BOND

TRATAMIENTOS	# DE EXP.	BIOENSAYO
Extractos acuosos	5	Explantos <u>P. vulgaris</u>
	2	Aspersiones en plantas intactas en <u>Z. mays</u>
	4	Epidermis desprendida <u>C. communis</u>
Con solución nutritiva	3	Explantos <u>P. vulgaris</u>
Concentraciones de 100, 500 y 1000 ppm	9	Epidermis desprendida <u>C. communis</u>

PAPEL KRAFT

TRATAMIENTOS	#DE EXP.	BIOENSAYO
Extractos acuosos	3	Explantos <u>P. vulgaris</u>
Con solución nutritiva	3	Explantos <u>P. vulgaris</u>
Puestos a ebullición	1	Explantos <u>P. vulgaris</u>

4.3. Descripción de las características de los bioensayos fisiológicos.

4.3.1. Bioensayo de explantes de P. vulgaris cv. Cacahuete 72.

Este bioensayo se utilizó para estimar el efecto sobre la transpiración de plántulas de P. vulgaris cv. Cacahuete 72, producido por los extractos acuosos de papel.

Las semillas de frijol se sembraron en charolas de madera de 45 cm de largo x 35 cm de ancho x 7 cm de profundidad; conteniendo vermiculita, colocando 5 hileras de 8 semillas cada una, teniendo así 40 plántulas por charola. Las charolas se colocaron en el invernadero para el desarrollo de las plántulas y se regaron cada tercer día.

Entre los diez y los catorce días después de la siembra, las charolas se trasladaron a una cámara de crecimiento (Warren Kyson Sherer CEL 38 - 15 Plant Growth Chamber), con las siguientes condiciones ambientales: fotoperíodo de 12 horas, humedad relativa de 50 % y temperatura de $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante el día y la noche para su aclimatación por un período mínimo de 24 horas, antes de iniciar el bioensayo.

Para el bioensayo se seleccionaron 15 plántulas de 15 - 16 días de edad (después de la siembra), con una altura aproximada de 25 cm y que presentaban sólo las hojas simples completamente desarrolladas.

Los explantes se obtuvieron haciendo un corte tangencial en el tallo arriba del nudo cotiledonario. Estos cortes se realizaron debajo del agua, para impedir la interrupción de la columna de agua en los vasos del xilema. El bioensayo se inició entre las 8 y las 8:30 de la mañana (Ballesteros, 1982).

Los explantes así realizados, se colocaron uno en cada frasco de 70 ml en dos lotes: el experimental con 8 frascos que contenían 25 ml del extracto acuoso de papel a probar y el control con 8 frascos conteniendo 25 ml de agua destilada o de solución nutritiva en su caso.

Se pesaron los frascos, obteniéndose el peso inicial (P_i) en una balanza granataria (Sartorius GM BH 2354) y se colocaron en la cámara de crecimiento durante 24 horas, con las condiciones ambientales antes mencionadas.

Después de transcurridas las 24 horas, los frascos se pesaron nuevamente (P_f) y se determinó el área foliar (A_f) en un integrador automático de área foliar (Automatic Area Meter, model AAM - 5 Kyokuto Boekikaisha LTD, Japan).

La transpiración se estimó mediante la fórmula siguiente:

donde:

$$T = \frac{P_i - P_f}{A_f t}$$

T = transpiración ($\text{mg H}_2\text{O cm}^{-2} \text{ h}$)
 P_i = peso inicial (g - mg)
 P_f = peso final (g - mg)
 A_f = área foliar (cm^2)
 t = tiempo (horas)

4.3.2. Bioensayo con plantas intactas.

Este bioensayo se utilizó para determinar el efecto sobre la transpiración de plántulas intactas producido por los extractos acuosos de papel, los cuales se aplicaron sobre ambas superficies de las hojas.

Se utilizaron plántulas de *Z. mays* cv. H-28. Las semillas se sembraron en vasos de unícel con 300 g de suelo esterilizado, una semilla en cada vaso.

Los vasos se regaron cada tercer día y se colocaron en el invernadero para el desarrollo

de las plántulas y entre los diez y los catorce días (después de la siembra), se trasladaron a la cámara de crecimiento con las siguientes condiciones ambientales: fotoperíodo de 12 horas, humedad relativa de 50 % y temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$ durante el día y la noche, para aclimatarlas por 24 horas como mínimo. Por lo tanto, se seleccionaron 24 plántulas de 15 - 16 días de edad que presentaban la segunda hoja ligulada.

Al iniciar el bioensayo se colocó papel aluminio en la superficie del suelo y antes de cerrar el sistema se llevaron los vasos a un peso inicial (Pi) aproximadamente igual, agregando agua hasta capacidad de campo.

Una vez cerrado el sistema, el extracto acuoso de papel y el agua destilada como control se aplicaron sobre ambas superficies de las hojas en dos formas diferentes: sumergiendo las hojas en las soluciones y asperjándolas con un aspersor manual.

Las soluciones se aplicaron mezclándolas con una pequeña cantidad de humectante Tween 80.

Los vasos así tratados se pasaron a la cámara de crecimiento con las condiciones ambientales mencionadas. El consumo de agua se determinó gravimétricamente a las 24 y 48 horas después de iniciado el bioensayo. El área foliar se estimó a las 48 horas mediante un integrador automático.

Obtenidos los datos se utilizó la fórmula de la transpiración anotada en el punto 4.3.1. para los explantes.

4.3.3. Bioensayo de la apertura estomatal en tiras de epidermis desprendida de Commelina communis.

Este bioensayo es apropiado para dos propósitos principales: 1) para detectar ácido abscísico (ABA) y compuestos relacionados de actividad semejante y 2) puede emplearse en la búsqueda de otros compuestos naturales con actividad antitranspirante (Ogunkanmi., et al., 1973). En este bioensayo se evita la interferencia de otras hormonas de crecimiento como son las auxinas, citoquininas y GA-3.

En este bioensayo se utilizaron plantas jóvenes (5 a 8 semanas de edad) de C. communis crecidas en el invernadero. Un día antes de iniciar el bioensayo se trasladaron al laboratorio para su aclimatación. Las hojas que se utilizaron fueron cortadas bajo el agua y puestas a flotar en agua destilada con la cara abaxial hacia abajo, en una caja de Petri durante 3 horas, en una cámara lumínica con una intensidad luminosa de 11280 lux.

Después de transcurrido este tiempo, se procedió a levantar la epidermis de la hoja, mediante unas pinzas finas y las tiras desprendidas se pusieron de nuevo en la caja de Petri con agua destilada, donde se cortaron en trozos de 0.25 cm² aproximadamente. Estos trozos se transfirieron mediante un pincel fino a viales de 9 ml (3 trozos por cada vial) previamente preparados con 3 ml del extracto acuoso de papel a probar o de agua destilada como control.

Estos viales fueron entonces puestos en un incubador de agua circulante, que se encontraba en una cámara con las siguientes condiciones: temperatura de $28 \pm 1^\circ\text{C}$; intensidad luminosa de 11,280 lux; un flujo de aire sin dióxido de carbono que se burbujea a los viales por medio de un sistema de mangueras en forma de T y mediante agujas hipodérmicas (fig. 1).

Se estimó la apertura inicial de los estomas y después de 60 minutos de tratamiento, se determinó la apertura de 10 estomas de cada trozo observados bajo el microscopio, determinando esta apertura con un ocular micrométrico (fig. 2).

4.4. Diseño experimental y análisis estadístico.

En todos los experimentos que se llevaron a cabo, se usó un diseño completamente al azar.

La significancia de las diferencias encontradas, en cada uno de los experimentos, se evaluó comparando cada uno de los tratamientos con la prueba "T" y en los casos necesarios se usó la prueba de Tukey con una $P \leq 0.05$.

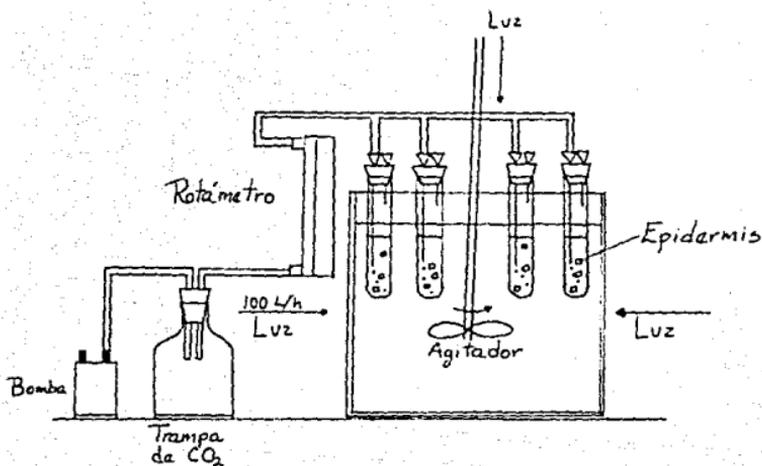
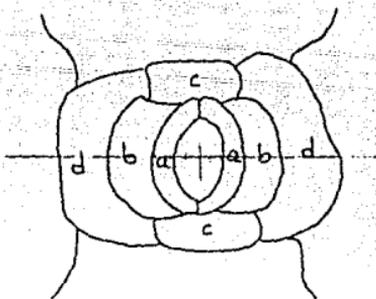


Figura 1 Incubador de agua circulante



- a) células oclusivas
- b) células subsidiarias laterales internas
- c) células subsidiarias terminales
- d) células subsidiarias laterales externas

Figura 2. Estoma de Commelina communis medido bajo el microscopio con ocular micrometrico.

V. RESULTADOS

Después de la obtención de los extractos acuosos se estimó el pH de las soluciones, el cual fue de 4.5 a 5.7 para las soluciones de papel bond y de 5.3 a 6.9 para las de papel de envoltura (estos datos se pueden observar en la tablas IIIa y IIIb del apéndice donde se encuentran también las tablas de resultados de los experimentos).

5.1. Resultados de las pruebas a las que fueron sometidos los extractos acuosos de papel.

5.1.1. Bioensayos con extractos acuosos de papel bond.

a) Efecto de extractos acuosos de papel bond sobre la transpiración de explantes de *P. vulgaris* cv. Cacahuete 72. Se puede observar en la figura 3, una reducción de transpiración en los cinco experimentos llevados a cabo, en relación con sus respectivos controles de agua destilada, presentando valores promedio para la transpiración de 139.46 y 95.05 mg H₂O cm²/24h para los controles y tratamientos respectivamente. Los porcentajes de reducción de transpiración en dichos experimentos fluctuaron en un intervalo de 17 a 41 %, siendo el porcentaje promedio de 30 % de reducción de transpiración.

En cada uno de los cinco experimentos se comparó el efecto de los extractos con sus respectivos controles con una prueba de "T" y resultó ser significativo el efecto con una $P \leq 0.05$.

b) Se estimó el efecto de extractos acuosos de papel bond sobre la transpiración de plantas intactas de *Z. mays* (figura 4). Se encontró que la reducción de transpiración fue de 31.28 % para el primer experimento y de 25.71 % para el segundo experimento en las primeras 24 horas, siendo el porcentaje promedio de reducción igual a 28 %; y para las 48 horas, en el primer experimento se encontró un incremento de transpiración del 3.82 % y una reducción del 8.03 % en el segundo experimento.

En estos experimentos se presentó cierta dificultad para que las soluciones permanecieran sobre las superficies de las hojas, por esta razón, las plántulas de maíz se sumergieron primero en las soluciones y después se asperjaron. Este procedimiento

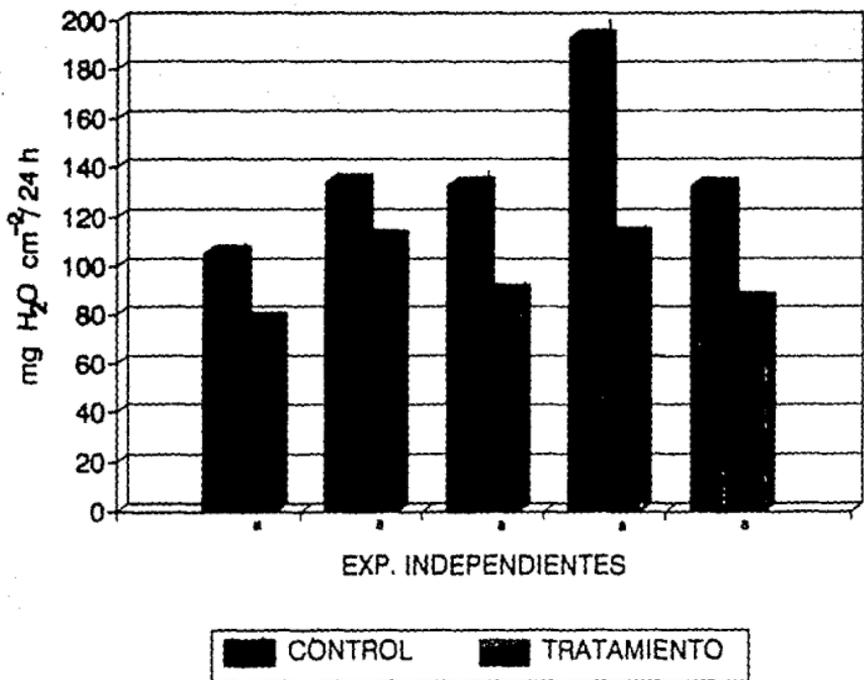


FIGURA 3.

Efecto de extractos acuosos de papel bond, sobre la transpiración de explantes de *P. vulgaris*, en 5 experimentos independientes. Cada barra es la media de 8 repeticiones \pm el error estándar. * - SIGNIFICATIVA.

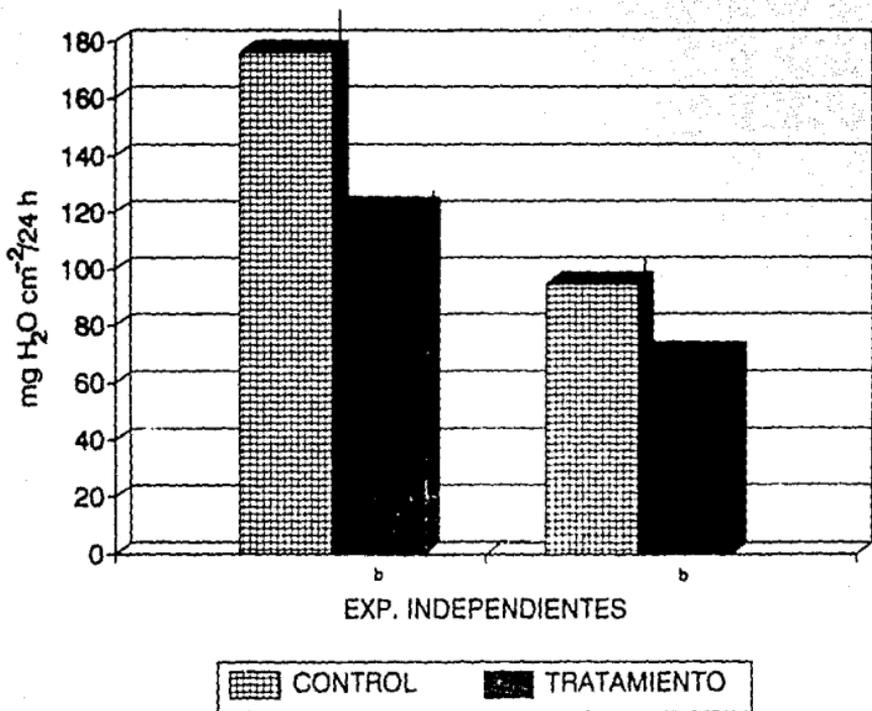


FIGURA 4.

Efecto de extractos acuosos de papel bond, sobre la transpiración de plantulas de *Z. mays* después de un tratamiento de 24 hrs. Cada barra es el promedio de 8 repeticiones \pm el error estandar para el control y 16 repeticiones \pm el error estandar para el tratamiento.

b. NO SIGNIFICATIVA.

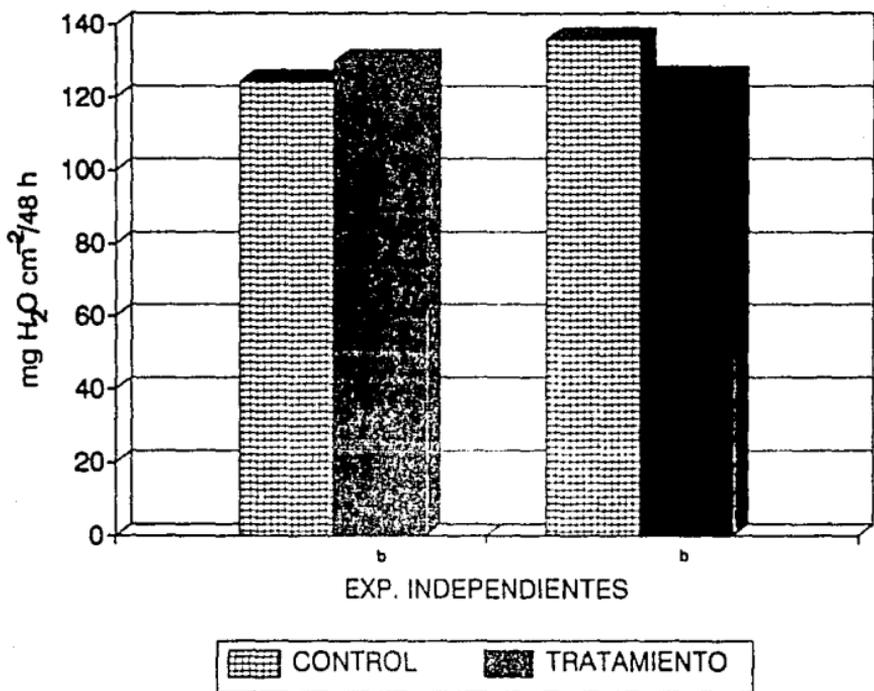


FIGURA 4b.

Efecto de extractos acuosos de papel bond, sobre la transpiración de plantulas de *Z. mays* después de un tratamiento de 48 hrs. Cada barra es el promedio de 8 repeticiones \pm el error estándar para el control y 16 repeticiones \pm el error estándar para el tratamiento.

b - NO SIGNIFCTVA.

presentó la desventaja de que las hojas se lastimaban con relativa facilidad, trozándose o doblándose, lo que alteró el registro de datos. Este problema se presentó en dos plántulas del experimento 2 y en una del control respectivo. Además, debido a la gran variabilidad en el efecto producido no se encontró ninguna diferencia estadística.

c) Sobre el efecto de extractos acuosos en la apertura estomatal de tiras de epidermis despreñida de *C. communis* se encontró que inhibieron la apertura estomatal, como se observa en la figura 5 (en la figura las tres barras del tratamiento no representan tratamientos distintos, únicamente se empleó el espacio disponible en la cámara de incubación de las epidermis colocando tres viales con el mismo tratamiento por cada control de agua destilada). La apertura promedio de las epidermis de los cuatro experimentos fué de 9.72 y 2.68 micras para los controles y tratamientos respectivamente. En los viales de los cuatro experimentos realizados los porcentajes de la apertura estomatal, con respecto al control de agua destilada, el cual representa el 100 % de apertura, variaron del 17 al 43 %, encontrándose que la apertura promedio de los doce viales realizados fue de 28 %, esto representó un cierre estomatal parcial del 72 % producido por estos extractos acuosos de papel bond.

En cada uno de los viales de los cuatro experimentos se comparó el efecto de los extractos con sus respectivos controles con una prueba de "T" y resultó significativo el efecto con una $P \leq 0.05$.

5.1.1.1. Extractos acuosos de papel bond con solución nutritiva.

Como se observa en la figura 6, los extractos acuosos de papel bond con solución nutritiva causaron una reducción de transpiración, con respecto al control de solución nutritiva, en explantes de *P. vulgaris*, esta reducción se encontró en un intervalo de 8.5 a 16 %, con un porcentaje promedio de 12 % de reducción.

Cabe hacer notar, que la transpiración tomó valores inferiores, tanto en los controles como en los tratamientos, con respecto a los valores de los experimentos sin solución nutritiva, donde la transpiración tomó un valor promedio de $140 \text{ mg H}_2\text{O cm}^{-2} / 24 \text{ h}$ para los controles de agua destilada en comparación con el valor de $58.8 \text{ mg H}_2\text{O cm}^{-2} / 24 \text{ h}$ promedio para los controles de solución nutritiva. Los tratamientos con solución nutritiva tuvieron una transpiración de $51.66 \text{ mg H}_2\text{O cm}^{-2} / 24 \text{ h}$.

Al realizar la comparación, en los tres experimentos realizados, del efecto de los extractos con sus respectivos controles mediante una prueba de "T", se encontró una diferencia significativa solamente en el primer experimento, mientras que en los dos restantes no hubo significancia con una $P \leq 0.05$ en los tres casos.

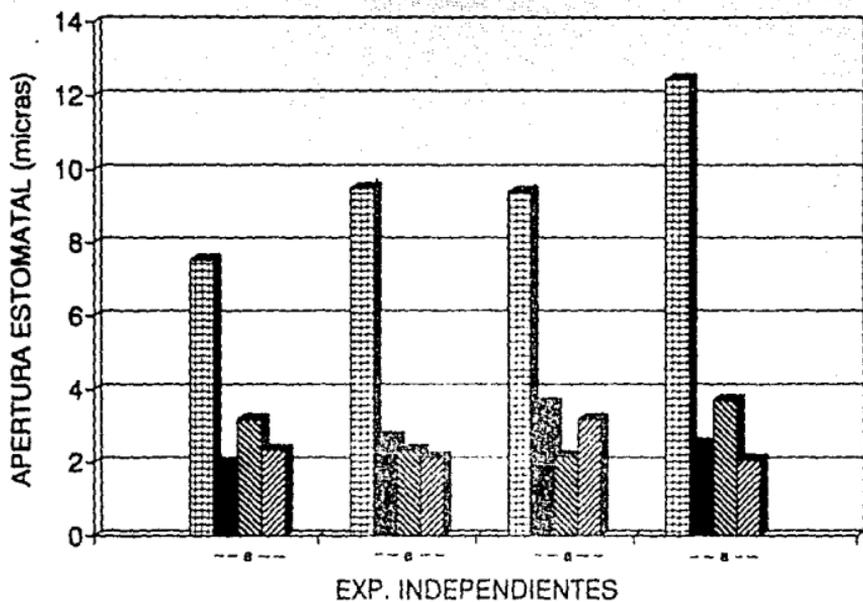


FIGURA 5.

Efecto de extractos acuosos de papel bond, sobre la apertura estomatal, en tiras de epidermis desprendida de *C. communis*, en 4 experimentos independientes. Cada barra es el promedio de 20 estomas \pm el error estandar. a- SIGNIFICATIVA.

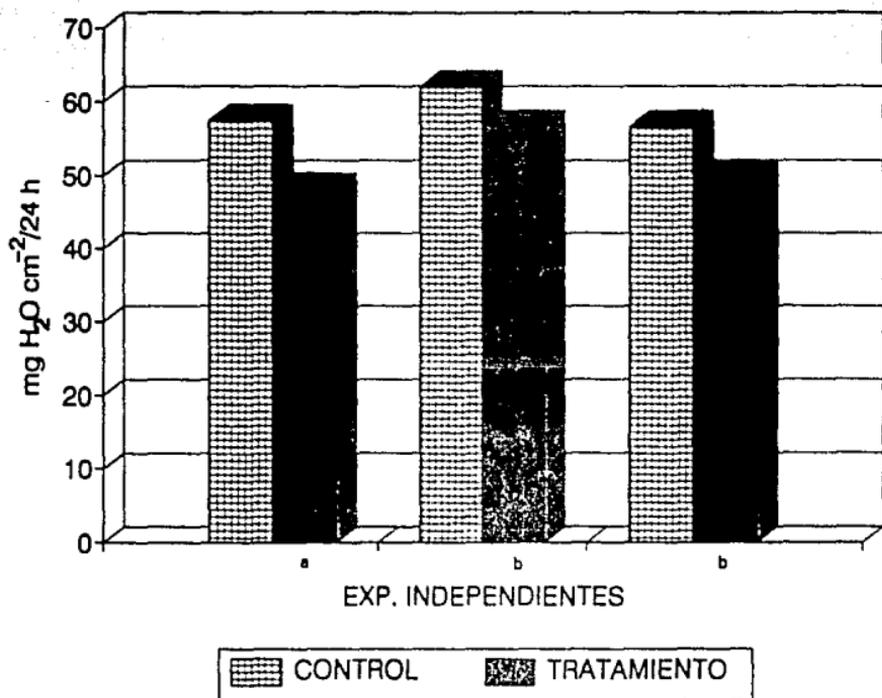


FIGURA 6.

Efecto de extractos acuosos de papel bond, con solución nutritiva, sobre la transpiración de explantes de *P. vulgaris*, en 3 experimentos independientes. Cada barra es el promedio de 8 repeticiones \pm el error estandar. a - SIGNIFICATIVA b - NO SIGNIFICATIVA.

5.1.1.2. Extractos acuosos de papel bond liofilizados, en concentraciones de 1000, 500 y 100 ppm.

Los resultados de este experimento se observan en la figura 7 y 7'. La concentración de 100 ppm inhibió la apertura estomatal presentando una apertura promedio de 11.20 y 3.12 micras para los controles y tratamientos respectivamente. El porcentaje promedio de los nueve experimentos fue de 28 % de apertura, lo que representa un cierre estomatal de 72 % con respecto al control de agua destilada.

Se encontró que las concentraciones de 1000 y 500 ppm favorecen la apertura estomatal, en tiras de epidermis desprendida de *C. communis*. Los porcentajes de apertura promedio de los nueve experimentos realizados de cada concentración son de 157.4 % y 135.5 % respectivamente, con respecto al control de agua destilada que representa el 100 % de apertura.

Al realizar el análisis estadístico mediante la prueba de Tukey, se encontró que en los experimentos independientes número 1, 4, 6, 7, 8 y 9 todos los tratamientos (100, 500 y 1000 ppm) mostraron un efecto diferente significativamente entre sí y con su control respectivo; en cambio, en los experimentos número 2, 3 y 5 no hubo diferencia significativa en el efecto causado por los tratamientos 500 y 1000 ppm; y por último, en el experimento 3 el control y el tratamiento de 500 ppm se agruparon sin diferencia significativa entre ellos. Todos los experimentos fueron comparados con una $P \leq 0.05$.

5.1.2. Extractos acuosos de papel de envoltura (papel kraft).

El efecto causado por los extractos acuosos de papel de envoltura sobre la transpiración de explantes de *P. vulgaris* fue inhibitorio, siendo los porcentajes de disminución de 14% hasta 32 %, con un porcentaje promedio de los cinco experimentos realizados de 23.5% de disminución de transpiración, en relación a los controles de agua destilada (figura 8). Los valores promedio de la transpiración fueron de 92.89 y 70.76 mg H₂O cm⁻² h para los controles y tratamientos respectivamente.

En cada uno de los cinco experimentos se comparó el efecto de los extractos con sus respectivos controles mediante una prueba de "T" y resultó ser un efecto significativo con una $P \leq 0.05$.

Sin embargo, durante la realización de estos experimentos se produjo una pérdida de turgencia de las hojas de las plántulas tratadas, esta pérdida de turgencia se presentó del ápice al peciolo y de los bordes al centro, sin que se presentara un marchitamiento de las hojas. Por lo anterior, se realizaron tres experimentos más en donde los extractos se filtraron nuevamente, sin vacío, como se indicó en la metodología (4.2.2.).

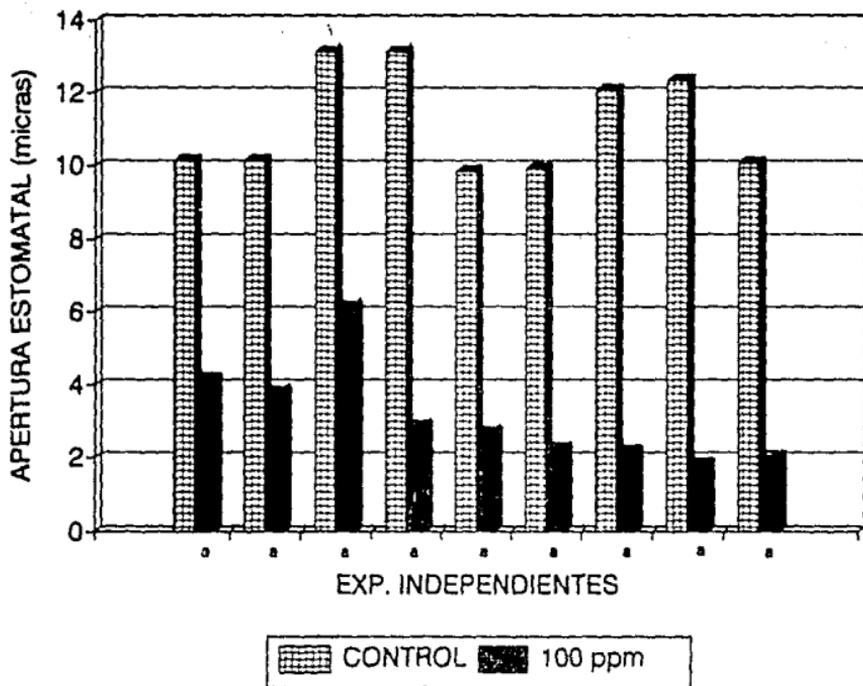


FIGURA 7.

Efecto de extractos acuosos de papel bond, en concentración de 100 ppm, sobre la apertura estomatal, en tiras de epidermis desprendida de *C. communis*, en 9 experimentos independientes. Cada barra es el promedio de 30 estomas \pm el error estándar.

a- SIGNIFICATIVA.

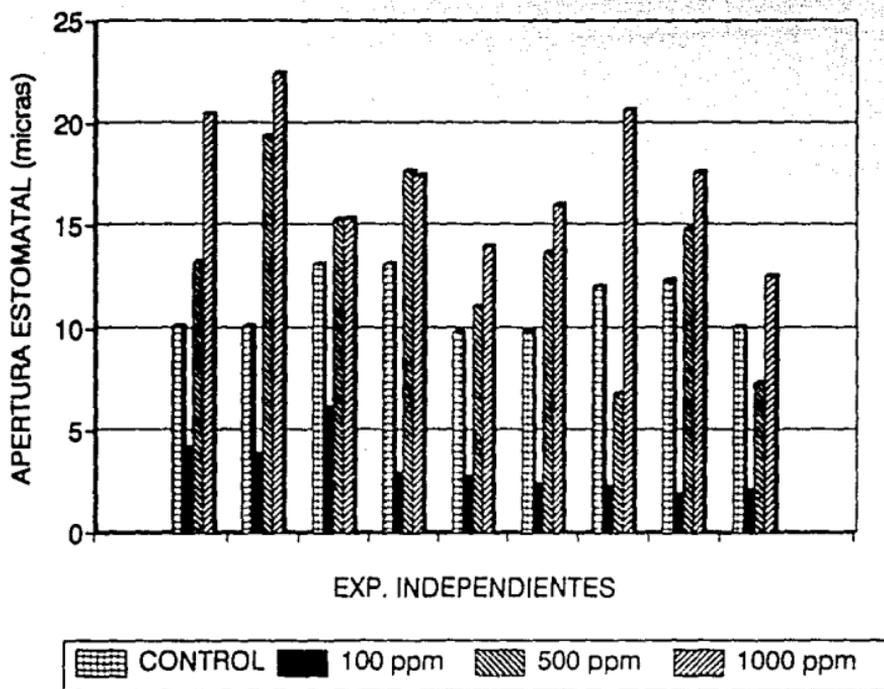


FIGURA 7b.

Efecto de extractos acuosos de papel bond, en concentración de 100, 500 y 1000 ppm, sobre la apertura estomatal, en tiras de epidermis desprendida de *C. communis*, en 9 experimentos independientes. Cada barra es el promedio de 30 estomas \pm el error estandar.

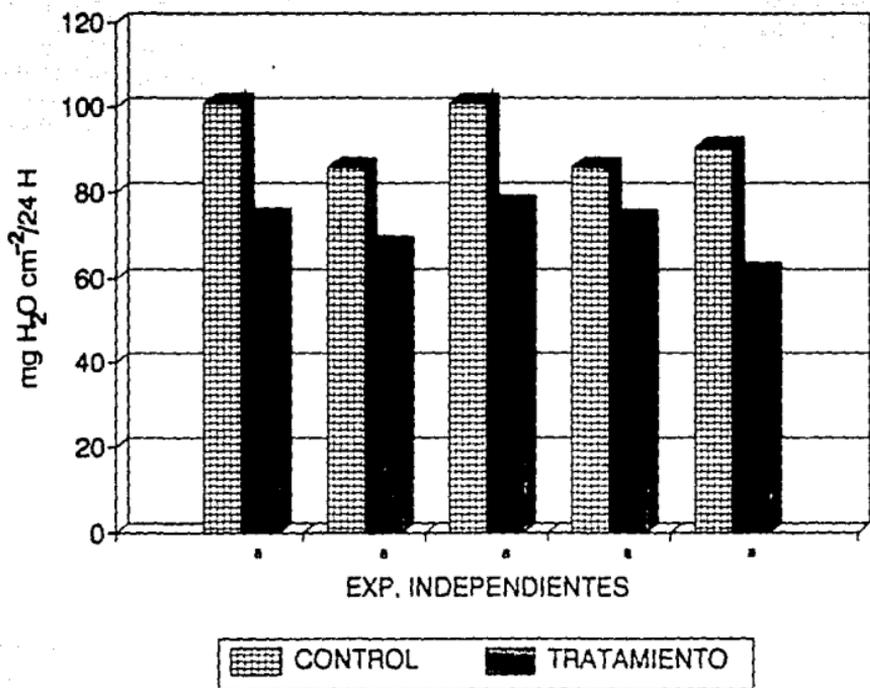


FIGURA 8.

Efecto de extractos acuosos de papel de envoltura, sobre la transpiración de explantes de *P. vulgaris*, en 5 experimentos independientes. Cada barra es el promedio de 8 repeticiones \pm el error estandar. a. SIGNIFICATIVA.

Los resultados de estos tres experimentos pueden observarse en la figura 9, en donde el porcentaje promedio de reducción de transpiración fue de 22 %, eliminándose la pérdida de turgencia en las hojas. Los valores promedio de la transpiración fueron de 90.52 y 70.60 mg H₂O cm⁻²/ 24 h para los controles y tratamientos respectivamente.

En cada uno de los tres experimentos se comparó el efecto de los extractos con sus controles respectivos mediante una prueba de "T" encontrándose un efecto significativo con una $P \leq 0.05$.

5.1.2.1. Extractos acuosos de papel de envoltura con solución nutritiva.

Los resultados de las pruebas de los extractos acuosos de papel de envoltura con solución nutritiva sobre la transpiración de explantes de *P. vulgaris* se muestran en la figura 10. El efecto de estos extractos redujo la transpiración en 19 % en promedio de los experimentos realizados, con respecto al control de solución nutritiva, en estos experimentos, como en los de papel bond, el valor de la transpiración de los controles disminuyó de 93 mg H₂O cm⁻²/24 h de los controles de agua destilada a 48 mg en los controles de solución nutritiva (cerca del 50 %). Sin embargo, las plantas tratadas en estos experimentos presentaron un valor promedio de transpiración de 38.25 mg H₂O cm⁻²/ 24 h por debajo del valor promedio de los controles, reduciendo la transpiración.

En cada uno de los tres experimentos se comparó el efecto de los extractos con sus controles respectivos con una prueba de "T", encontrándose un efecto significativo en los experimentos 2 y 3 y un efecto no significativo en el experimento 1 con una $P \leq 0.05$.

5.1.2.2. Extractos acuosos de papel de envoltura "hervidos".

El efecto causado por los extractos acuosos de papel de envoltura, puestos a ebullición directa, sobre la transpiración de explantes de *P. vulgaris*, se observa en la figura 11, la transpiración fue de 87.29 y 65.30 mg H₂O cm⁻²/ 24 h para el control y el tratamiento respectivamente. Se encontró una reducción de transpiración con un porcentaje de 25 % con respecto al 100 % de transpiración del control de agua destilada. Se comparó el efecto del extracto con su control respectivo con una prueba de "T" en el experimento realizado y resultó un efecto significativo con una $P \leq 0.05$

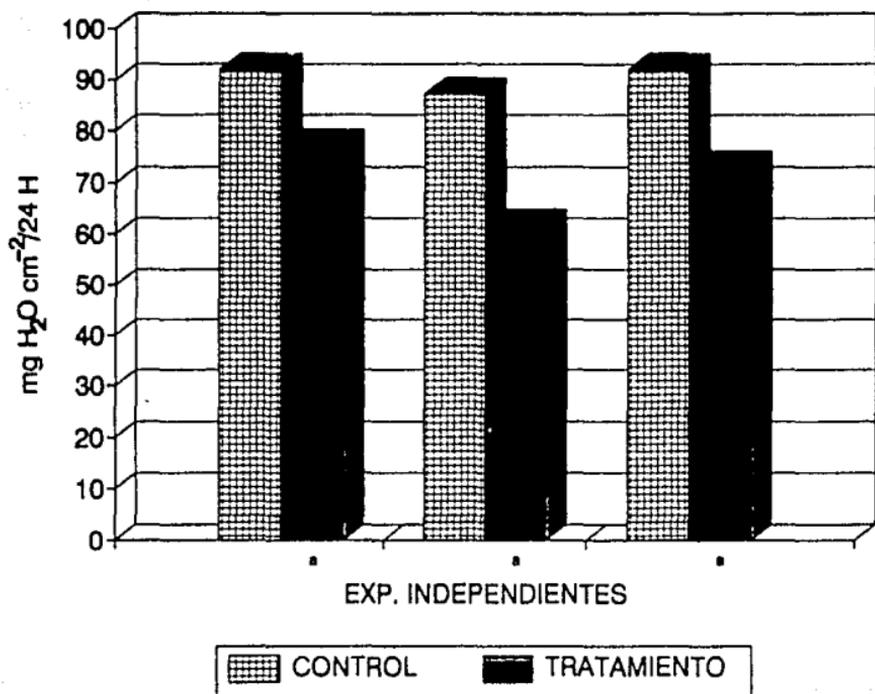


FIGURA 9.
 Efecto de extractos acuosos de papel de envoltura, sobre la transpiración de explantes de *P. vulgaris*, en 3 experimentos independientes. Cada barra es el promedio de 8 repeticiones \pm el error estándar. a - SIGNIFICATIVA.

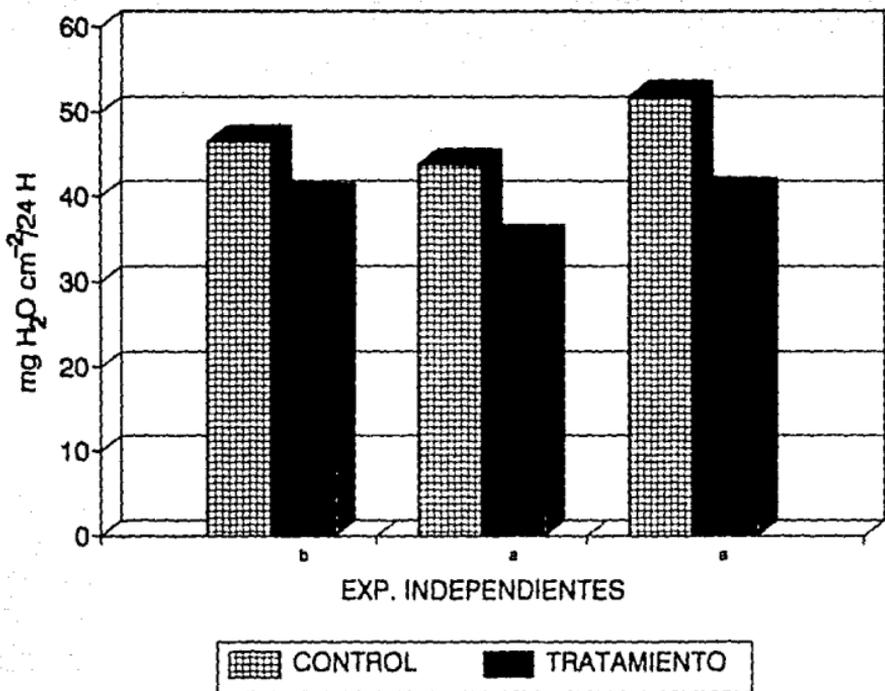


FIGURA 10.

Efecto de extractos acuosos de papel de envoltura, con solución nutritiva, sobre la transpiración de explantes de *P. vulgaris*, en 3 experimentos independientes. Cada barra es el promedio de 8 repeticiones \pm el error estándar. a- SIGNIFICATIVA b- NO SIGNIFICATIVA.

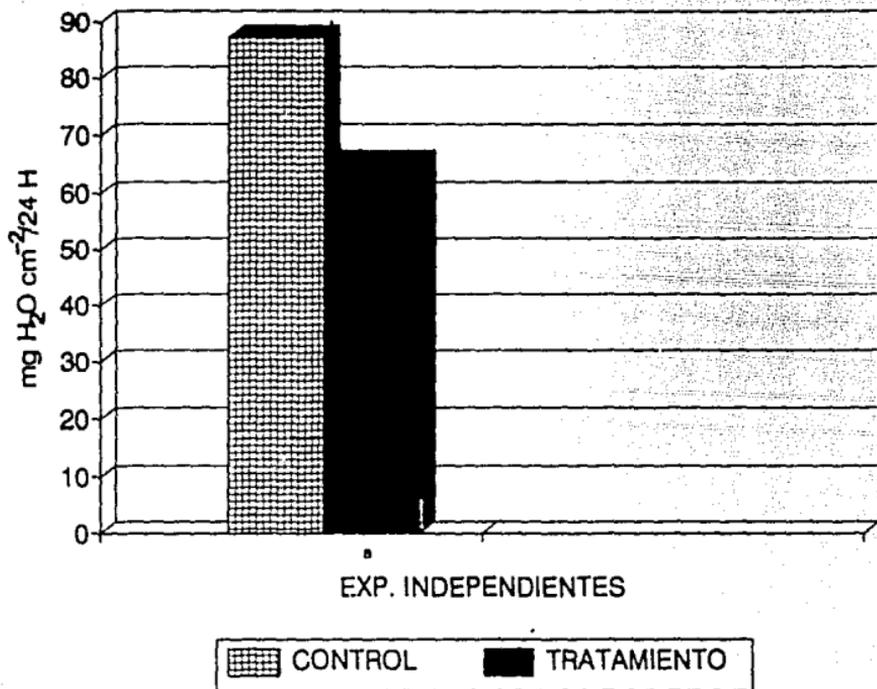


FIGURA 11.

Efecto de extractos acuosos de papel de envoltura "hervidos", sobre la transpiración de explantes de *P. vulgaris*. Cada barra es el promedio de 8 repeticiones \pm el error estándar.

a. SIGNIFICATIVA.

VI. DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos al probar los extractos acuosos de papel bond en los bioensayos realizados, muestran una reducción significativa de transpiración de 30 % en el bioensayo de explantes de P. vulgaris: un cierre estomatal significativo de 72% en tiras de epidermis desprendida de C. communis con los extractos acuosos y también con la concentración de 100 ppm de los extractos liofilizados. Se encontró un incremento significativo de la apertura estomatal de 35 a 57 % en las concentraciones de 500 y 1000 ppm respectivamente. Al realizar los experimentos de los extractos acuosos de papel bond con solución nutritiva en explantes de frijol, se encontró una reducción significativa de transpiración de 12 % sólo en uno de los 3 experimentos realizados.

Y por último, al probar los extractos acuosos de papel bond asperjados sobre la superficie foliar de plantas intactas de Z. mays, se encontró una reducción de transpiración en las primeras 24 horas de 28 % y a las 48 horas de tratamiento un aumento de transpiración de 3.82 % y una reducción de 8.03 % de transpiración, sin encontrarse efecto significativo estadísticamente.

El pH influye en las propiedades físicas, la disponibilidad de ciertos minerales para las plantas y las actividades biológicas del suelo, por lo que influye en el crecimiento de las plantas (Weier, et al 1979). Se consideran suelos ácidos los que poseen un pH 3.5 a 4.7, suelos agrícolas con un pH 5.0 a 7.0 y suelos alcalinos ricos en sales con pH 8.0 a 9.0 (Salisbury y Ross, 1978). Los suelos que mas influyen en la disponibilidad y lixiviación de los nutrientes son los ácidos y en los alcalinos algunos nutrientes se precipitan como sales e hidróxidos.

Los efectos producidos por los extractos acuosos de papel en la transpiración y la apertura estomatal no se deben al pH. El pH de los extractos acuosos de papel utilizados no se ajustó y puede considerarse fisiológico. El pH final de los extractos acuosos no se estimó.

Los bioensayos de explantes de frijol y de tiras de epidermis desprendida de C. communis no presentaron ningún problema para su realización, sin provocar ningún daño aparente sobre los tallos y las hojas de las plantas tratadas.

Los resultados de los experimentos realizados en tiras de epidermis desprendida de C. communis muestran que los extractos acuosos con la concentración original de 1:10

(100g de papel en 1000 ml de agua destilada) tienen el mismo efecto inhibitorio de la apertura estomatal que la solución liofilizada con una concentración de 100 ppm. Ambas soluciones provocaron un cierre estomatal significativo de 72 %.

En estos experimentos, al encontrar la inhibición de la apertura estomatal utilizando aire libre de dióxido de carbono en el medio de incubación, puede presumirse que estos extractos no incrementan la concentración o nivel de compensación de dióxido de carbono en los espacios intercelulares, de manera similar al mecanismo de acción del ABA, el cual cumple con la condición de no inhibir químicamente la fotosíntesis del mesófilo ya que no incrementa apreciablemente la concentración de dióxido de carbono (Jones y Mansfield, 1970). En cambio, Orton y Mansfield (1976) señalan que el Daminozido causa el cierre estomatal incrementando la concentración de dióxido de carbono y este modo de actuar no incrementa la eficiencia de uso de agua; llegaron a estas conclusiones cuando, al utilizar aire libre de dióxido de carbono en el medio de incubación, se produce una inversión apreciable del efecto inhibitorio de la apertura estomatal inducido por el Daminozido en aire normal.

Por otro lado, las concentraciones de 500 y 1 000 ppm provocaron un efecto que favorece significativamente la apertura estomatal en 35 y 57 % respectivamente. Probablemente este efecto se deba a un daño en las células adyacentes a las células oclusivas de los estomas, permitiendo así, mayor apertura del poro estomatal, sin embargo, esto no fue comprobado durante el experimento.

Parece ser por tanto que no es necesaria una concentración muy alta para que se produzca el cierre estomatal.

En los experimentos realizados con los extractos acuosos de papel bond con solución nutritiva en explantes de frijol, se encontró una reducción de transpiración de 12 % que, comparada con el 30% de reducción obtenida en los experimentos de los extractos acuosos sin solución nutritiva es menor y podría indicar que parte de este 30 % de reducción se debe a la falta de algún elemento necesario para la planta y que el 12 % de reducción es provocada por los extractos acuosos de papel. Sin embargo, cabe hacer notar que la solución nutritiva produjo una reducción de transpiración en las plantas control, lo que podría significar que la solución nutritiva por sí misma reduce la transpiración, comparada con los niveles de transpiración producidos por los controles de agua destilada.

Larqué-Saavedra y Soto (1986) obtuvieron resultados similares, al realizar dos experimentos independientes llevados a cabo usando una solución de 100 ppm de los exudados de raíz liofilizados disueltos en solución nutritiva, sobre la transpiración de explantes de frijol. La reducción en la tasa de transpiración obtenida en los explantes tratados fue menor que con las soluciones acuosas tanto en los tratamientos como

en los controles. Sin embargo, las diferencias fueron estadísticamente significativas y representan una reducción de al menos 15 % del total.

Los resultados de la aplicación de los mismos extractos acuosos en el bioensayo de aspersiones de plantas intactas de *Z. mays* son contradictorios, ya que no sólo la reducción de transpiración es menor que la encontrada en los explantes, sino que además, en uno de los experimentos se encontró un aumento de transpiración en 3.82 %. Lo anterior, puede deberse a varios factores:

- En primer lugar, los resultados de los explantes y las aspersiones no pueden ser comparados completamente, porque los experimentos fueron llevados a cabo en dos especies diferentes de plantas (en los explantes *P. vulgaris* y en las aspersiones de plantas intactas *Z. mays*) y como se ha observado en múltiples ocasiones, las respuestas pueden depender de las especies, debido a las diferencias de sensibilidad entre ellas. Davenport *et al* (1969) y Solárová *et al* (1981) al probar el PMA, se dieron cuenta de la importancia de elegir la concentración correcta del PMA y los materiales que promueven el cierre estomatal para evitar efectos de fitotoxicidad, mencionando que esto puede variar según la especie, debido a las diferencias de sensibilidad entre ellas. En otros estudios, Davies y Kozlowski (1974) y Davenport *et al* (1974, en Trejo, 1981) enfatizan que el ambiente y las especies influyen de manera importante la eficiencia y utilidad de los antitranspirantes, por lo que ambos factores deberían ser evaluados cuidadosamente antes de recomendar el uso de un antitranspirante.

- En segundo lugar, se encontraron dificultades para la permanencia de las soluciones sobre la superficie de las hojas, la permanencia puede afectar la penetración de la sustancia a través de la cutícula cerosa y permeable que cubre a las hojas. No se conoce la naturaleza de la penetración cuticular. Algunos investigadores sugieren sitios preferenciales de entrada como: células epidérmicas que se encuentran sobre nervaduras, por la base de tricomas y a través de estomas abiertos (Dybing y Currier 1961, en Trejo 1981). Los líquidos pueden penetrar por los estomas, sin embargo las soluciones acuosas con una tensión superficial igual a la del agua pura no pasan a través del poro estomatal, se necesita disminuir esta tensión con la adición de un humectante o sustancia tensoactiva para lograr la penetración. También podemos encontrar diferencias entre las especies en cuanto a la distribución de la cutícula dentro y sobre las hojas.

Además, en el estudio hecho por Trejo (1981), utilizando ácido salicílico como antitranspirante, encontró que esta sustancia más glicerol al 0.5 % presentó una alta tensión superficial (73.8 dinas/cm) y fue donde se obtuvo reducción en la transpiración, esto pudo deberse a la baja volatilidad del glicerol, permitiendo, que la solución permaneciera durante un largo tiempo sobre la superficie de la hoja o a que el glicerol posiblemente aumenta la permeabilidad de la hoja. El autor menciona que los factores que intervienen en la penetración son específicos para cada sistema empleado, el tipo

de planta y el bioensayo usado.

Por otro lado, hay una estrecha relación entre el bioensayo usado, la penetración y la concentración de las soluciones, como lo demuestra la investigación realizada por Orton y Mansfield (1976) usando Daminozido o B9 como antitranspirante. En sus experimentos utilizaron concentraciones desde 2.5 a 300 ppm en el bioensayo de tiras de epidermis desprendida de *Commelina communis* encontrando un cierre estomatal completo a 150 ppm y a 300 ppm hubo daño celular, en cambio, al utilizar este compuesto aplicado con pincel las superficies foliares de *Xanthium* se obtuvo un 80 % de reducción del grado de apertura estomatal con una concentración de 1000 ppm y las concentraciones usadas fueron 500, 750 y 1000 ppm, todas mayores que las utilizadas en los otros experimentos; señalan entonces, que fueron necesarias concentraciones mayores para lograr el cierre estomatal en *Xanthium* y el daño en las células también fue menor, debido al secado después de la aplicación y a la "pobre" penetración. Dicks (1972, en Orton y Mansfield, 1976) mostró que solo el 30 % del Daminozido fue retenido después de 24 horas de su aplicación en *Chrysanthemum*. Bravdo (1972) señala que el modo de acción de las diferentes sustancias o agentes químicos difiere a varias concentraciones, dentro de un cultivar y entre cultivares.

- En tercer lugar, otra fuente de error para el registro de datos pudo haber sido el método de aplicación de los extractos ya que por un lado, mediante las aspersiones no hay un control exacto de la cantidad de sustancia que es asperjada sobre cada superficie de la hoja, por lo que la cantidad puede variar de una hoja a otra y de una planta a otra, y por el otro, el método de sumergir las hojas en los extractos acuosos, no es un procedimiento seguro porque puede provocar daño en las hojas maltratándolas y afectando así el registro de datos.

Al probar los extractos acuosos de papel de envoltura (papel kraft) los resultados encontrados fueron: una reducción de transpiración significativa de 23.5 % con los extractos acuosos y de 22 % con los extractos resultados de una filtración doble en explantes de frijol; una reducción de transpiración significativa de 27 % con los extractos acuosos "hervidos" en explantes de frijol y finalmente una reducción significativa de transpiración de 19 % con los extractos acuosos con solución nutritiva en dos de los tres experimentos realizados en explantes de frijol.

Los resultados de los experimentos llevados a cabo con los extractos acuosos de papel de envoltura (papel kraft), en explantes de *P. vulgaris* son similares a los obtenidos con el papel bond. En los primeros 5 experimentos realizados se obtuvo una reducción de transpiración promedio de 23.5 %, sin embargo, se encontró cierto daño en las hojas, provocando una pérdida de turgencia que produjo un doblamiento de los bordes de las hojas, esto se debió, posiblemente, a que este tipo de papel al ser remojado dejó en el agua destilada fragmentos del mismo que, tal vez, formaron tapones en los conductos

vasculares, por lo tanto, se hizo necesario una segunda filtración mas lenta y sin vacío que eliminó estos fragmentos, por lo que, se realizaron 3 experimentos más, en donde, se obtuvo el 22 % de reducción de transpiración y no se presentó ningún daño notable en los tallos y hojas de las plantas tratadas.

Los extractos acuosos de papel de envoltura en solución nutritiva redujeron la transpiración en menor porcentaje que los extractos acuosos sin solución nutritiva, y de igual manera que en los experimentos con papel bond, se encontró una marcada reducción de transpiración en los controles de solución nutritiva comparados con los controles de agua destilada, sin embargo, la transpiración fue, de cualquier forma, menor en las plantas tratadas que mostraron una reducción significativa de transpiración de 19 %.

Los experimentos que se realizaron con los extractos acuosos de papel de envoltura después de haber sido sujetos a ebullición (a más de 90°C) muestran que los extractos conservaron su efecto sobre las plantas y redujeron la transpiración significativamente en 25%. Por lo anterior, puede pensarse que la molécula contenida en los extractos acuosos no es termolábil.

Los extractos acuosos de papel bond y de envoltura no causaron daño aparente en las plantas, al pasar a través de los conductos vasculares (en los explantes), ni sobre la superficie de las hojas (al ser asperjados en las plantas intactas), y tampoco parecen dañar a los estomas de las tiras de epidermis desprendida.

Al comparar los resultados obtenidos al usar los dos tipos diferentes de papel, encontramos: que para los explantes de P. vulgaris los extractos de papel bond causaron un 30 % de reducción de transpiración, mientras que los de papel de envoltura produjeron un 22 % y en los experimentos con solución nutritiva, los extractos de papel bond causaron una reducción de 12 % en tanto, que la de los de papel de envoltura fue de 19 % por lo que, se puede decir que no hay diferencia determinante en el efecto causado por los diferentes tipos de papel y que debe evaluarse dependiendo de su calidad y su costo.

En el proceso de fabricación de papel se utiliza como materia prima las fibras de celulosa, de longitud variable, contenidas en la madera, en el bagazo de caña y en los trapos de algodón, lino y cañamo. Con el fin de adaptar el papel a diferentes usos se añaden a la celulosa otras sustancias denominadas cargas (caolín, talco, carbonatos) y encolados (resinas, colas animales, almidón) los cuales quedan fijos en las fibras por medio de soluciones de sulfato de aluminio y mejoran la apariencia y calidad del papel (Ramos y Turrado, 1983). Así se obtiene la pasta fibrosa de trapos, de madera y/o de celulosa o pasta química.

El papel para escribir (papel bond) tiene las características de estar bien encolado, siendo resistente, con superficie fina y blanco. La materia prima para producir papel kraft es la madera de pino que provee fibras naturales largas que garantizan su calidad. El papel kraft tiene uso industrial, para sacos de cemento, cal, alimentos balanceados y cajas de cartón corrugado.

La producción de papel es un proceso de eliminación de agua de la pasta fibrosa en cuatro etapas: drenado, succión, prensado y secado y se realiza en la máquina de producción continua de papel (Valero, 1983).

Tratar de ubicar a los extractos acuosos de papel probados como antitranspirantes dentro de su clasificación es un tanto difícil, considerando que se desconoce el carácter químico de la sustancia o molécula contenida en ellos. Sin embargo, por su modo de actuar sobre las plantas mismas y sobre la transpiración, podría decirse que los extractos acuosos de papel se comportan como un antitranspirante metabólico o químico, ya que, en primer lugar, al haber sido asperjados sobre la superficies de las hojas de las plantas intactas de maíz, no formaron ninguna película visible a simple vista, por lo que no pueden considerarse como antitranspirante formador de película que impida el paso de agua, tampoco actuaron como antitranspirante relleante. En segundo lugar, por la prueba de los extractos acuosos de papel sobre la apertura estomatal en tiras de epidermis desprendida de *C. communis*, parece que actúan directamente sobre el aparato estomatal, sin embargo, serían necesarias otras pruebas para determinar si realmente actúan sobre el estoma y para determinar en que parte del metabolismo de las células oclusivas del estoma actúan, para producir por un lado, el cierre estomatal que se encontró en los extractos acuosos de papel bond y en la concentración de 100 ppm de los extractos liofilizados y por el otro, favorecer la apertura estomatal observada en las concentraciones de 500 y 1000 ppm de los mismos extractos.

Los experimentos realizados en la presente tesis solo representan la fase inicial en el proceso de la búsqueda de un antitranspirante realmente efectivo en los extractos acuosos de papel.

Estos experimentos fueron realizados en condiciones de laboratorio, lo que significa que sólo proporcionan ciertos datos, como el de tener efecto sobre la transpiración y la apertura estomatal; por lo que es necesario que se lleven a cabo experimentos en el invernadero donde se evalúen un mayor número de plantas y la producción de granos, para conocer, en alguna medida, si es que hay efecto sobre la fotosíntesis, sobre el balance de bióxido de carbono y la fotosíntesis y la posibilidad de fitotoxicidad.

Se podrían investigar además, otros métodos de aplicación, como el riego en macetas o en el campo para determinar la penetración a través del sistema radical.

Igualmente, es necesario investigar para identificar que tipo de molécula está contenida en estos extractos acuosos de papel.

VII. BIBLIOGRAFIA.

- Anderson, J.E. and Kreith, F. 1978. Effects of film-forming and silicone antitranspirants on four herbaceous plant species. Plant and Soil 49 : 161-173.
- Ballesteros, L.J.L. 1982. Resistencia a la Sequía II. Efecto de exudados de raíz de diferentes especies en la transpiración de Phaseolus vulgaris L. Tesis de Licenciatura Biología. Facultad de Ciencias U.N.A.M. México.
- Bravdo, B. 1972. Effects of several transpiration suppressants on carbon dioxide and water vapour exchange of citrus and grapevine leaves. Physiol Plant 26: 152 - 156.
- Das, V.S.R. and Raghavendra, A.S. 1979. Antitranspirants for improvement of water use efficiency crops. Outlook on Agriculture 10 : 92 - 98.
- Davenport, D.C.; Hagan, R.M. and Martin, P.E. 1969. Antitranspirants...uses and effects on plant life. California Agriculture 23 : 14 - 16.
- Davies, W.J. and Kozlowski, T.T. 1974. Short-and-long-term effects of antitranspirants on water relations and photosynthesis of woody plants. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 99 : 297 - 304.
- Davies, W.J.; Wilson, J.A.; Sharp, R.E. and Osonubi, O. 1981. Control of stomatal behaviour in water-stressed plants. In: Stomatal Physiology. Cambridge University Press. Cambridge. 163-185.
- De León, G.F. 1979. Efecto del ácido acétil salicílico sobre algunos aspectos de la fisiología estomatal de Commelina communis L. Tesis de Maestría en Ciencias. C.P. Chapingo, México.
- De León, G.F. y Larqué-Saavedra, A. 1979. Cierre estomatal inducido por aspirina y su dependencia del pH. Agrociencia 37: 67-75.
- Fischer, R.A. 1968. Stomatal opening: Role of Potassium uptake by guard cells. Science 160: 784 - 785.
- Hiron, R.W.P. and Wrigth, S.T.C. 1973. The role of endogenous abscisic acid response of plants to stress. J. Exp. Bot. 24 : 769 - 781.

- Itai, C.; Weyers, J.D.B.; Hillman, J.R.; Meldner, H. and Willmer, C. 1978. Abscisic acid and guard cells of Commelina communis L. Nature 271: 652 - 653.
- Jones, R.J. and Mansfield, T.A. 1970. Suppression of stomatal opening in leaves treated with abscisic acid. J. Exp. Bot. 21: 714-719.
- Jones, H.G. 1978. How plants respond to stress. Nature 271: 610.
- Larqué-Saavedra, A. 1975. Studies on hormonal aspects of plant growth in relation to chemical and environmental treatments. A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy. University of London. England.
- Larqué-Saavedra, A. 1978. The antitranspirant effect of acetylsalicylic acid on Phaseolus vulgaris L. Physiol Plant 43:126 - 128.
- Larqué-Saavedra, A. y Soto, M.(1986). Effect of root exudates of Salix caprea on transpiration of bean plants and stomatal aperture of Commelina communis. Phyton 42 : 139 - 144.
- Mansfield, T.A. 1971. Los estomas: dispositivos versátiles, pero difíciles sujetos de experimentación. Traducido Del Jour. of Biological Education 5: 115 - 123 por Josué Kohashi. Rama de Botánica. Colegio de Postgraduados Chapingo, México.
- Mansfield, T.A. and Davies, W.J. 1979. Responses of stomata: the primary mechanisms of drought avoidance in mesophytes. In: Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in plants. Academic Press. Australia.
- Mansfield, T.A.; Travis, A.J. and Jarvis, R.G. 1981. Responses to light and carbon dioxide. In: Stomatal Physiology. Cambridge University Press. Cambridge.
- Milborrow, B.V. 1981. Abscisic acid and other hormones. In: The Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in plants. Academic Press. Australia. 347 - 388.
- Moreshet, S.; Stanhill, G. and Fuchs, M. 1977. Effects of increasing foliage reflectance on the Carbon Dioxide uptake and transpiration resistance of grain sorghum crop. Agron. J. 69: 246-250.
- Nava, S.T. 1984. Resistencia a la sequía XIV. Resistencia a la sequía de cuatro cultivares de frijol Phaseolus vulgaris L. Tesis de Licenciatura Biología. Facultad de Ciencias U.N.A.M. México.

- Ogunkanmi, A.B.; Tucker, D.J. and Mansfield, T.A. 1973. An improved bio-assay for abscisic acid and other antitranspirants. New Phytol. 72: 277 - 282.
- Ogunkanmi, A.B.; Wellburn, A.R. and Mansfield, T.A. 1974. Detection and preliminary identification of endogenous antitranspirants in water - stress sorghum plants. Planta 117: 293 - 302.
- Orton, P.J. and Mansfield, T.A. 1976. Studies of the mechanism by which Daminozide (B-9) inhibits stomatal opening. J. Exp. Bot. 27 : 125 - 133.
- Palevitz, B.A. 1981. The structure and development of stomatal cells. In: Stomatal Physiology. Cambridge University Press. Cambridge.
- Ramos Q.J.R. y Turrado S.J. 1983. Como funciona... ICyT 87: 47-48.
- Raschke, K. 1975. Stomatal action. Ann. Rev. Plant Physiol. 26 : 309 - 340.
- Salisbury, F.B. and Ross, C.W. 1978. Plant Physiology. Wadsworth Publishing Company. Inc. California. pp 422.
- Solárová, J.; Pospisilová, J. and Slavik, B. 1981. Gas exchange regulation by changing of epidermal conductance with antitranspirants. Photosynthetica 15 : 365 - 400.
- Stanhill, G.; Moreshet, S. and Fuchs, M. 1976. Effect of increasing foliage and soil reflectivity on the yield and water use efficiency of grain sorghum. Agron. J. 68 : 229 - 332.
- Trejo, L.C. 1981. Resistencia a la sequía IV: Efecto antitranspirante del ácido salicílico sobre frijol (Phaseolus vulgaris L.). Tesis de Licenciatura Biología. Facultad de Ciencias U.N.A.M. México. pp.66.
- Tucker, D.J. and Mansfield, T.A. 1971. A simple bioassay for detecting "antitranspirant" activity of natural occurring compounds such as abscisic acid. Planta 98 : 157 - 163.
- Valero, J.M. 1983. Atenquique, una gran matriz que gesta toneladas de papel. ICyT 87: 23 - 26.
- Weier, T.E.; Stocking, G.R. y Barbour, M.C. 1979. Botánica. Limusa. México. pp. 741.
- Willmer, C.M. 1981. Guard cell metabolism. In: Stomatal Physiology. Cambridge University Press. Cambridge.

- Wilson, J.A. and Davies, W.J. 1979. Farnesol - like antitranspirant and stomatal behaviour in maize and Sorghum lines of differing drought tolerance. Plant Cell and Environment 2: 49- 57.
- Wright, S.T.C. and Hiron, R.W.P. 1969. (+) - abscisic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting. Nature 224 : 719 - 720.

VIII. APENDICE

TABLA II. SOLUCION NUTRITIVA (TOMADA DE LARQUE-SAAVEDRA, 1975).

COMPUESTO		mg/l
1. NITRATO DE CALCIO	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1330.0
2. DESHIDROGENOFOSFATO DE POTASIO	KH_2PO_4	330.0
3. SULFATO DE MAGNESIO	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	170.0
4. Fe EDTA	EDTA	61.0
5. ACIDO BORICO	H_2BO_3	2.9
6. SULFATO DE MANGANESO	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	2.0
7. SULFATO DE COBRE	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.1
8. MOLIBDATO DE SODIO	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.1
9. SULFATO DE ZINC	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.1

TABLA IIIa. pH DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL BOND Y DE SUS CONTROLES RESPECTIVOS \pm EL ERROR ESTANDAR.

PAPEL BOND	pH
EXTRACTOS ACUOSOS	5.3 ± 0.1
CONTROL AGUA DESTILADA	5.7 ± 0.1
EXTRACTOS ACUOSOS CON SOLUCION NUTRITIVA	4.5 ± 0.1
CONTROL SOLUCION NUTRITIVA	5.3 ± 0.1
CONCENTRACION 1000 ppm	5.7 ± 0.1
500 ppm	5.5 ± 0.1
100 ppm	5.1 ± 0.1
CONTROL AGUA DESTILADA	5.7 ± 0.1

TABLA IIb. pH DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL DE ENVOLTURA Y SUS CONTROLES RESPECTIVOS \pm EL ERROR ESTANDAR

PAPEL DE ENVOLTURA	pH
EXTRACTOS ACUOSOS	6.9 \pm 0.1
CONTROL AGUA DESTILADA	5.7 \pm 0.1
EXTRACTOS ACUOSOS CON SOLUCION NUTRITIVA	5.8 \pm 0.1
CONTROL SOLUCION NUTRITIVA	5.3 \pm 0.1
EXTRACTOS ACUOSOS "HERVIDOS"	6.9 \pm 0.1
CONTROL AGUA DESTILADA	5.7 \pm 0.1

TABLA IV. EFECTO DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL BOND SOBRE LA TRANSPIRACION DE EXPLANTES DE *P. vulgaris* MEDIA DE 8 REPETICIONES \pm EL ERROR ESTANDAR.

EXP	mg H ₂ O cm ⁻² / 24 h \pm error estándar	% TRANSPIRACION
1 C	105.06 \pm 7.02	100
T	77.30 \pm 5.08	73.57
2 C	134.15 \pm 3.44	100
T	111.17 \pm 2.17	82.87
3 C	132.86 \pm 9.30	100
T	88.90 \pm 6.23	62.91
4 C	193.04 \pm 11.28	100
T	112.24 \pm 8.80	58.14
5 C	132.20 \pm 4.57	100
T	85.65 \pm 4.31	64.78

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

TABLA V. EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL BOND SOBRE LA TRANSPIRACION DE PLANTAS INTACTAS DE *Z. mays*. MEDIA DE 8 REPETICIONES ± EL ERROR ESTANDAR.

EXP	mg H ₂ O cm ⁻² 24 h ± error estándar	% TRANSPIRACION
1 C	176.15 ± 23.66	100
T	121.05 ± 8.49	68.71
2 C	94.54 ± 13.88	100
T	70.24 ± 3.21	74.29
EXP	mg H ₂ O cm ⁻² 48 h ± error estándar	% TRANSPIRACION
1 C	124.36 ± 6.58	100
T	129.86 ± 7.52	103.82
2 C	135.94 ± 11.29	100
T	125.02 ± 6.28	91.97

TABLA VI. EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL BOND SOBRE LA APERTURA ESTOMATAL DE TIRAS DE EPIDERMIS DESPRENDIDA DE *G. communis*. MEDIA DE 20 ESTOMAS \pm EL ERROR ESTANDAR.

EXP	APERTURA (micras)	ESTOMATAL %
1 C	7.53 \pm 0.19	100
T	1.94 \pm 0.19	25.76
T	3.21 \pm 0.22	42.63
T	2.37 \pm 0.25	31.47
2 C	9.51 \pm 0.41	100
T	2.70 \pm 0.25	28.39
T	2.36 \pm 0.22	24.81
T	2.16 \pm 0.24	22.71
3 C	9.38 \pm 0.29	100
T	3.64 \pm 0.19	38.80
T	2.19 \pm 0.18	23.35
T	3.21 \pm 0.25	34.27
4 C	12.45 \pm 0.19	100
T	2.53 \pm 0.25	20.32
T	3.72 \pm 0.31	29.88
T	2.11 \pm 0.17	16.95

TABLA VII. EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL BOND CON SOLUCION NUTRITIVA, SOBRE LA TRANSPIRACION DE EXPLANTES DE *P. vulgaris*. MEDIA DE 8 REPETICIONES \pm EL ERROR ESTANDAR.

EXP.	mg H ₂ O cm ⁻² 24 h \pm error estándar	% TRANSPIRACION
C	57.48 \pm 2.08	100
1	48.30 \pm 1.62	84.03
C	61.98 \pm 1.52	100
2	56.68 \pm 2.03	91.44
C	56.68 \pm 3.01	100
3	50.00 \pm 1.39	87.75

TABLA VIII-A. EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL BOND EN CONCENTRACION DE 100 ppm, SOBRE LA APERTURA ESTOMATAL EN TIRAS DE EPIDERMIS DESPRENDIDA DE *C. communis*. MEDIA DE 30 ESTOMAS MEDIDOS \pm EL ERROR ESTANDAR.

EXP.	APERTURA ESTOMATAL micras	%
1 C	10.14 \pm 0.26	100
100 ppm	4.18 \pm 0.30	41.22
2 C	10.14 \pm 0.26	100
100 ppm	3.80 \pm 0.27	37.47
3 C	13.13 \pm 0.39	100
100 ppm	6.14 \pm 0.43	46.76
4 C	13.13 \pm 0.39	100
100 ppm	2.87 \pm 0.29	21.86
5 C	9.86 \pm 0.25	100
100 ppm	2.70 \pm 0.28	27.38
6 C	9.92 \pm 0.24	100
100 ppm	2.28 \pm 0.22	22.98
7 C	12.08 \pm 0.35	100
100 ppm	2.19 \pm 0.22	18.13
8 C	12.35 \pm 0.22	100
100 ppm	1.85 \pm 0.13	14.98
9 C	10.08 \pm 0.22	100
100 ppm	2.03 \pm 0.23	20.14

TABLA VIII-B. EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL BOND EN CONCENTRACIONES DE 1000, 500 Y 100 ppm, SOBRE LA APERTURA ESTOMATAL DE TIRAS DE EPIDERMIS DESPRENDIDA DE *C. communis*. MEDIA DE 30 ESTOMAS MEDIDOS \pm EL ERROR ESTANDAR.

EXP. (ppm)	APERTURA micras	ESTOMATAL %	EXP. (ppm)	APERTURA micras	ESTOMATAL %
1 C	10.14 \pm 0.26	100	2 C	10.14 \pm 0.26	100
100	4.18 \pm 0.30	41.22	100	3.80 \pm 0.27	37.47
500	13.24 \pm 0.40	130.57	500	19.47 \pm 0.40	192.01
1000	20.53 \pm 0.49	202.46	1000	22.47 \pm 0.56	221.60
3 C	13.13 \pm 0.39	100	4 C	13.13 \pm 0.39	100
100	6.14 \pm 0.43	46.76	100	2.87 \pm 0.29	21.86
500	15.34 \pm 0.33	116.83	500	17.68 \pm 0.27	134.65
1000	15.35 \pm 0.37	116.91	1000	17.47 \pm 0.62	133.05
5 C	9.86 \pm 0.25	100	6 C	9.92 \pm 0.24	100
100	2.70 \pm 0.28	27.38	100	2.28 \pm 0.22	22.98
500	11.08 \pm 0.38	112.37	500	13.69 \pm 0.28	138.00
1000	14.02 \pm 0.34	142.19	1000	16.06 \pm 0.24	161.89
7 C	12.08 \pm 0.35	100	8 C	12.35 \pm 0.22	100
100	2.19 \pm 0.22	18.13	100	1.85 \pm 0.13	14.98
500	6.85 \pm 0.52	139.48	500	14.85 \pm 0.26	120.24
1000	20.74 \pm 0.60	171.62	1000	17.62 \pm 0.25	142.67
9 C	10.08 \pm 0.22	100			
100	2.03 \pm 0.23	20.14			
500	7.37 \pm 0.34	73.11			
1000	12.58 \pm 0.33	124.80			

TABLA IX. EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL DE ENVOLTURA SOBRE LA TRANSPIRACION DE EXPLANTES DE *P. villosa*. MEDIA DE 8 REPETICIONES \pm ERROR ESTANDAR.

EXP..	mg H ₂ O cm ⁻² 24 h \pm error estándar	% TRANSPIRACION
C	100.99 \pm 5.69	100
1	74.05 \pm 3.75	73.32
C	85.92 \pm 2.62	100
2	67.62 \pm 1.02	78.70
C	100.99 \pm 5.69	100
3	76.94 \pm 3.70	76.18
C	85.92 \pm 2.62	100
4	73.70 \pm 1.94	85.77
C	90.61 \pm 4.97	100
5	61.48 \pm 2.46	67.85

TABLA X. EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL DE ENVOLTURA (FILTRACION LENTA), SOBRE LA TRANSPIRACION DE EXPLANTES DE *P. vulgaris*. MEDIA DE 8 REPETICIONES \pm EL ERROR ESTANDAR.

EXP.	mg H ₂ O cm ⁻² 24 h \pm error estándar	% TRANSPIRACION
C	92.14 \pm 2.60	100
1	77.10 \pm 3.39	83.67
C	87.29 \pm 3.77	100
2	61.59 \pm 3.53	70.56
C	92.14 \pm 2.60	100
3	73.11 \pm 3.42	79.35

TABLA XI. EFECTO DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL DE ENVOLTURA CON SOLUCION NUTRITIVA SOBRE LA TRANSPIRACION DE EXPLANTES DE *P. vulgaris*. MEDIA DE 8 REPETICIONES \pm EL ERROR ESTANDAR.

EXP.	mg H ₂ O cm ⁻² 24 h \pm error estándar	% TRANSPIRACION
C	46.50 \pm 2.62	100
1	39.64 \pm 2.08	85.42
C	43.88 \pm 1.21	100
2	34.73 \pm 1.95	79.15
C	51.87 \pm 2.68	100
3	40.37 \pm 1.13	77.83

TABLA XII. EFECTO DE EXTRACTOS ACUOSOS DE PAPEL DE ENVOLTURA "HERVIDOS", SOBRE LA TRANSPIRACION DE EXPLANTES DE P. vulgaris. MEDIA DE 8 REPETICIONES \pm EL ERROR ESTANDAR.

EXP.	mg H ₂ O cm ⁻² /24 h \pm error estandar	% TRANSPIRACION
C	87.29 \pm 3.77	100
1	65.30 \pm 1.56	71.79