



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**BIBLIOTECA  
CENTRO DE ECOLOGIA**

**EFFECTO DEL ACIDO FENILACETICO  
SOBRE EL CRECIMIENTO RADICULAR  
DE Amaranthus hypochondriacus L.**

**- T E S I S -**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS (BIOLOGIA CELULAR)**

**P R E S E N T A :**

**BIOL. HELVIA ROSA PELAYO BENAVIDES**

000287385

**DIRECTORA: DRA. ANA LUISA ANAYA LANG**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

JURADO:

Presidente        Dra. Ana Luisa Anaya Lang  
Primer Vocal     Dra. Judith Guadalupe Márquez Guzmán  
Segundo Vocal    Dr. Carlos Vázquez Yanes  
Tercer Vocal     Dr. Luis Felipe Jiménez García  
Secretario        M. en C. Mónica Raquel Calera Medina  
Suplente          M. en C. Sonia Vázquez Santana  
Suplente          M. en C. Felipe Cruz García

El presente trabajo se realizó en el laboratorio 206-Sur a cargo de la Dra. Ana Luisa Anaya Lang del Departamento de Bioenergética del Instituto de Fisiología Celular, UNAM, y en el laboratorio de Citología Vegetal a cargo de la Dra. Judith Guadalupe Márquez Guzmán del Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias, UNAM.

Sustentante:

Helvia Rosa Pelayo Benavides

Asesor:

Dra. Ana Luisa Anaya Lang /

Coasesor:

Dra. Judith Guadalupe Márquez Guzmán

Durante el periodo de estudios de Maestría se recibió una beca, otorgada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), num. de registro 81532, sin la cual la presente investigación no hubiera sido posible.



A mis padres con cariño y respeto  
María de Jesús Benavides Benavides  
y José R. Pelayo López

A mis queridos hermanos  
Horacio, Minerva,  
Norberto, Reyna y Homero

A mis estimados cuñados  
Patty, Manuel y Mario

A mis queridos sobrinos  
con esperanza y afecto  
Manuel, Alonso, Homero y Mario

A mis amigos  
Consuelo, Patty,  
Aurelio, Arturo,  
y Pirincho.

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a las siguientes personas:

A la Dra. Ana Luisa Anaya Lang por haber establecido el punto de partida de esta tesis y por las facilidades para su desarrollo, así como por su apoyo, amistad e interés en mi superación académica.

A la Dra. Judith Márquez por sus sugerencias, comentarios y activa participación en el desarrollo de este trabajo, así como por su apoyo, amistad y confianza.

A la M. en C. Sonia Vázquez del laboratorio de Citología Vegetal de la Facultad de Ciencias, UNAM, por su asesoría en el análisis estructural, así como por su apoyo y amistad.

Al M. en C. Felipe Cruz García del laboratorio 114 del Edif. "E" de la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Química, UNAM, por su apoyo para determinar el efecto del compuesto sobre la síntesis de ADN, así como por sus valiosos comentarios y su amistad.

A la Biol. Clara García Santana por su colaboración en la obtención de las curvas de crecimiento radical y de germinación.

Al M. en C. Alejandro Martínez Mena y al Biol. Alfredo Gamboa del laboratorio de Microcine de la Facultad de Ciencias, UNAM, por la obtención del material fotográfico.

A la M. en C. Mónica Raquel Calera Medina por sus comentarios y sugerencias, así como por su apoyo y amistad.

A los Doctores Carlos Vázquez Yanes y Luis Felipe Jiménez García por sus comentarios y sugerencias.

A mis compañeros y amigos del laboratorio 206-Sur del Instituto de Fisiología Celular (Edda, Blanca, Andrea, Sergio) y del laboratorio de Citología Vegetal de la Facultad de Ciencias (Ana, Silvia, Guille, Ricardo, Reyna, Chayo, Clara, Alicia, Guillermo).

Y a todos aquellos que de alguna forma contribuyeron al desarrollo y culminación de este trabajo de tesis. A todos ustedes muchas gracias.

## INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION	
A. ALELOPATIA.....	3
B. ESTRUCTURA DE LA RAIZ.....	6
ANTECEDENTES.....	10
OBJETIVOS.....	16
MATERIAL Y METODOS	
1. MATERIAL BIOLÓGICO.....	17
2. EFECTOS SOBRE GERMINACION Y CRECIMIENTO	
2.1. Curvas concentración-respuesta.....	17
2.2. Prueba de recuperación.....	18
2.3. Prueba de viabilidad.....	19
2.4. Efecto del ácido fenil-acético (AFA) sobre la germinación y crecimiento radical.....	19
3. SINTESIS DE ADN.....	20
4. EVALUACION ESTRUCTURAL	
4.1. Estructura radicular.....	21
4.2. Efecto del AFA sobre la estructura del ápice radi- cal.....	22
RESULTADOS Y DISCUSION	
1. EFECTOS SOBRE GERMINACION Y CRECIMIENTO	
1.1. Curvas concentración-respuesta.....	24
1.2. Efecto del AFA sobre la germinación y crecimiento radical.....	32

2. SINTESIS DE ADN.....	36
3. EVALUACION ESTRUCTURAL	
3.1. Estructura radicular.....	39
3.2. Efecto del AFA sobre la estructura del ápice radical.....	43
CONCLUSIONES.....	53
COMENTARIOS FINALES.....	54
APENDICE 1.....	56
APENDICE 2.....	61
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	62

## LISTA DE FIGURAS

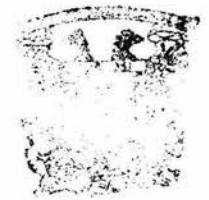
- FIGURA 1. EFECTO DE LA ACETONA SOBRE LA GERMINACION Y CRECIMIENTO RADICAL DE *A. hypochondriacus*.....25
- FIGURA 2. EFECTO DEL AFA SOBRE LA GERMINACION Y CRECIMIENTO RADICAL DE *A. hypochondriacus*.....26
- FIGURA 3. EFECTO DEL PHFA SOBRE LA GERMINACION Y CRECIMIENTO RADICAL DE *A. hypochondriacus*.....27
- FIGURA 4. EFECTO DEL AIA SOBRE LA GERMINACION Y CRECIMIENTO RADICAL DE *A. hypochondriacus*.....28
- FIGURA 5. EFECTO DEL 2,4-D SOBRE LA GERMINACION Y CRECIMIENTO RADICAL DE *A. hypochondriacus*.....29
- FIGURA 6. EFECTO DEL AFA ( $4 \times 10^{-5}$ M) SOBRE LA CURVA DE CRECIMIENTO RADICAL, DURANTE LAS PRIMERAS 48 HORAS DEL DESARROLLO DE LA PLANTULA DE *A. hypochondriacus*.....34
- FIGURA 7. EFECTO DEL AFA ( $4 \times 10^{-5}$ ) SOBRE LA CINETICA DE GERMINACION DE SEMILLAS DE *A. hypochondriacus*.....35
- FIGURA 8. EFECTO DEL AFA SOBRE LA INCORPORACION DE  $^3\text{H}$ -TIMIDINA EN SEMILLAS DE *A. hypochondriacus* DURANTE SU IMBIBICION...37
- FIGURA 9. FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE MEDIANO DEL APICE RADICULAR DE *A. hypochondriacus*.....40
- FIGURA 10. FOTOMICROGRAFIAS DE CORTES MEDIANOS DE APICES RADICALES DE *A. hypochondriacus* A LAS 24 HORAS DE DESARROLLO EN AGUA Y AFA  $4 \times 10^{-5}$ M.....49
- FIGURA 11. FOTOMICROGRAFIAS DE CORTES MEDIANOS DE APICES RADICALES DE *A. hypochondriacus* A LAS 48 HORAS DE DESARROLLO EN

AGUA Y AFA ( $4 \times 10^{-5}M$ ).....50

FIGURA 12. FOTOMICROGRAFIAS CON LUZ POLARIZADA DE LAS CELULAS CENTRALES DE LA COLUMNELA, MOSTRANDO LA ABUNDANCIA Y DISTRIBUCION DE LOS AMILOPLASTOS, EN LOS APICES RADICALES DE PLANTULAS *A. hypochondriacus* CON 24 Y 48 HORAS DE DESARROLLO EN AGUA Y AFA ( $4 \times 10^{-5}M$ ).....51

## LISTA DE TABLAS

TABLA 1.	CONCENTRACION QUE PROVOCA EL 50% DE INHIBICION ( $CI_{50}$ ) DEL CRECIMIENTO RADICAL DE <i>A. hypochondriacus</i> A LAS 48 HORAS DE DESARROLLO DE LA PLANTULA.....	31
TABLA 2.	EFECTO DEL AFA SOBRE LA ESTRUCTURA RADICAL DE <i>A.</i> <i>hypochondriacus</i> A LAS 24 HORAS DEL DESARROLLO DE LAS PLANTULAS.....	46
TABLA 3.	EFECTO DEL AFA SOBRE LA ESTRUCTURA RADICAL DE <i>A.</i> <i>hypochondriacus</i> A LAS 24 HORAS DEL DESARROLLO DE LAS PLANTULAS.....	47



## RESUMEN

El polen de maíz posee un potencial fitotóxico que se manifiesta claramente *in vitro* y que puede tener importancia a nivel ecológico. Uno de los compuestos que contribuyen a este potencial es el ácido fenilacético (AFA), ampliamente distribuido entre las plantas y considerado como una auxina no-indólica.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del AFA sobre las primeras etapas del desarrollo del sistema radical de *Amaranthus hypochondriacus* L. (Amaranthaceae). Considerando el carácter auxínico del AFA, se realizaron bioensayos para comparar su efecto sobre la germinación y el crecimiento radical con el del ácido indolacético (AIA), el ácido para-hidroxi-fenilacético (PHFA) y el ácido 2,4-dicloro-fenoxiacético (2,4-D); con este fin se obtuvieron curvas de concentración-respuesta, donde por interpolación se calculó la concentración capaz de inhibir en un 50% el crecimiento radical ( $CI_{50}$ ). La concentración correspondiente a este valor se utilizó para establecer el efecto del AFA sobre: (1) la dinámica de la germinación y el crecimiento radical, (2) la síntesis de ADN (por incorporación de  $^3H$ -timidina), y (3) la estructura de los ápices radicales de las plántulas después de 24 y 48 horas de incubación.

Con base en los resultados se concluyó que el efecto inhibitorio del AFA depende de la concentración, al igual que el de los otros compuestos auxínicos. El efecto inhibitorio del AFA resulta en una demora de 18 horas en el crecimiento radical de *A. hypochondriacus*, sin alterar la tasa de germinación. Además, el AFA inhibió la síntesis de ADN en un 80% durante las primeras 16 horas de incubación. Con respecto a la evaluación



estructural, se determinó que el ápice radical de *A. hypochondriacus* tiene una organización del tipo cerrado, que se mantiene durante las primeras horas de desarrollo. El AFA no alteró esta organización, ni el diámetro apical, ni el diámetro del cilindro vascular y, en general, no modificó los puntos de diferenciación y maduración de los tejidos considerados. Sin embargo, se observó una diferencia en la cantidad de estatolitos (amiloplastos) presentes en la región de la columnela, aunque no fue posible determinar si este fenómeno se presenta de manera consistente.

## INTRODUCCION

### A. Alelopatía

La definición más generalizada y aceptada del concepto "Alelopatía" es la de Rice (1984), quién la considera como cualquier efecto benéfico o perjudicial, directo o indirecto de una planta (incluyendo microorganismos) sobre otra, a través de compuestos químicos producidos y liberados al ambiente o bien de los compuestos resultantes de su descomposición.

El concepto de alelopatía sugiere que las biomoléculas producidas por la planta escapan al ambiente, influyendo de esta manera sobre el crecimiento y desarrollo de otras plantas vecinas.

Con pocas excepciones, los agentes alelopáticos de origen vegetal son metabolitos secundarios que surgen de las vías metabólicas del acetato y del ácido siquímico, e incluso de la combinación de ambas. Whittaker y Feeny (1971) agrupan a los alelopáticos en 5 categorías, mientras que Rice (1984), con base en su semejanza estructural, los agrupa en 15 categorías. Aunque algunas similitudes son evidentes, considerando las vías primarias de su biosíntesis, hay una enorme diversidad de estructuras entre los varios cientos de compuestos alelopáticos conocidos. Algunos ejemplos de las categorías de compuestos químicos involucrados en el fenómeno alelopático son: los ácidos hidroxámicos, los glicósidos cianogénicos, los sulfuros, las purinas, algunos polipéptidos, los alcaloides, algunas quinonas, diversos ácidos orgánicos, los poliacetilenos, las lactonas insaturadas y

sesquiterpénicas, los terpenos, los ácidos grasos de cadena larga, los flavonoides, los taninos condensados e hidrolizables, los ácidos y los aldehídos benzoicos, los ácidos y aldehídos cinámicos, las cumarinas, así como las cetonas, los aldehídos y los alcoholes de cadena no ramificada, entre otros (Einhellig, 1995).

Rizvi y cols. (1992) sugieren que el modo de acción de los alelopáticos se puede dividir, de manera general, en acciones directas e indirectas.

La acción directa se refiere a los efectos de los alelopáticos sobre varios aspectos del metabolismo y crecimiento vegetal. Esta acción no solo involucra a las interacciones bioquímicas gruesas y sus efectos sobre los procesos fisiológicos, sino también a los mecanismos de acción de estos compuestos en sitios específicos a nivel molecular.

La acción indirecta, en cambio, puede incluir efectos que resultan de la alteración de las propiedades del suelo, el estatus nutricional y de la modificación tanto de la actividad como de la dinámica poblacional de organismos benéficos o dañinos para la planta.

Aun cuando la alelopatía se refiere tanto a efectos perjudiciales (inhibición de la germinación o crecimiento) como a efectos benéficos (estimulación), los primeros han sido abordados con mucha mayor frecuencia. Esta tendencia en los estudios de alelopatía probablemente se deba a que ofrece múltiples alternativas para el descubrimiento de compuestos que pudieran tener un uso potencial como herbicidas, antibióticos, reguladores

del crecimiento y plaguicidas, entre otros.

El principal criterio que se emplea para determinar la presencia o efectividad relativa de los alelopáticos, es el cambio en el tamaño y peso de los organismos de prueba (Rice, 1984). La reacción de los organismos depende de la concentración de los compuestos y del umbral de respuesta. Este umbral no es una constante para un alelopático específico, ya que está íntimamente relacionado con la sensibilidad de las especies receptoras, el proceso vegetal involucrado y las condiciones ambientales (Einhellig, 1986).

En los estudios de alelopatía, muchos de los bioensayos se han enfocado al efecto sobre la germinación y el crecimiento temprano de las plantas, procesos que se caracterizan por su gran actividad metabólica y por su susceptibilidad al estrés ambiental. Estos bioensayos en su forma más simple consisten en cuantificar la germinación y/o emergencia de las plántulas, y medir la longitud de la raíz o su equivalente. En este tipo de bioensayos se ha observado que el crecimiento radical es el proceso más afectado (Leather y Einhellig, 1988). Esto parece lógico, si consideramos que en el suelo las raíces son generalmente los primeros órganos que entran en contacto con los alelopáticos, a excepción tal vez de los compuestos volátiles (Balke, 1985).

Son muchos los reportes respecto a la inhibición del crecimiento radical causada por alelopáticos, sin embargo, existen pocas publicaciones que mencionen las alteraciones estructurales involucradas. Algunos de estos reportes corresponden a los trabajos



las filas celulares de la corteza y del cilindro vascular. Las células que lo constituyen reciben el nombre de células fundamentales. Estas células se caracterizan por su baja tasa metabólica y mitótica.

Las células iniciales, se encuentran rodeando al centro quiescente, y en contraste con las anteriores, muestran una elevada tasa de división y de actividad metabólica. En el presente trabajo no se hizo distinción, a nivel estructural, entre centro quiescente y células iniciales.

Las células derivadas son producto de la división de las células iniciales, y al igual que éstas tienen una actividad metabólica alta, aunque comienzan a mostrar otras características propias de las hileras celulares a las que corresponden.

La organización del meristemo puede ser abierta o cerrada de acuerdo a la disposición que presenten las células iniciales (Esau, 1977). En la organización cerrada cada una de las tres regiones (cilindro vascular, corteza y cofia), tiene su propio grupo de células iniciales o capa meristemática. Mientras que en la organización abierta, las tres regiones comparten y se originan del mismo grupo de células iniciales.

El meristemo apical de la raíz, es el tejido que define el arreglo y distribución de los otros tejidos que de él se originan. Una raíz con crecimiento primario está constituida básicamente por los siguientes tejidos: cofia, epidermis, corteza, endodermis y cilindro vascular (Roland y Roland, 1980; Fahn, 1989).

La cofia es un tejido parenquimatoso, con una elevada tasa de

regeneración, que cubre y protege (mediante la producción de mucílago) al meristemo radical, además de participar en la percepción y la modulación de la respuesta a la gravedad (Evans y cols., 1986; Burgess, 1989).

La epidermis es un tejido de protección, que consiste de una capa de células estrechamente unidas, algunas de las cuales son capaces de diferenciarse para dar origen, unos cuantos milímetros por arriba del ápice radical, a los pelos radicales.

Bajo la epidermis se encuentra la corteza primaria, formada principalmente por células parenquimatosas, no especializadas, con grandes espacios intercelulares. La capa más interna de la corteza, es la endodermis cuya característica más sobresaliente es la presencia de suberina en las paredes celulares radiales y transversales, que constituye la llamada Banda de Caspary (Font-Quer, 1973).

El cilindro vascular ocupa la región central de la raíz y está integrado por el xilema (tejido conductor de agua) y el floema (tejido conductor de nutrimentos). El xilema consiste de células conductoras, también denominadas elementos traqueales (traqueidas o elementos de vaso), así como de fibras y parénquima. En la raíz, los elementos traqueales maduran centripetamente, es decir, el protoxilema se localiza cerca del periciclo mientras que el metaxilema ocupa un posición cercana al eje de la raíz. El floema está constituido por tubos cribosos, células acompañantes, fibras y parénquima. La maduración de los elementos del floema es centripeta como en el caso del xilema. Entre los tejidos vasculares

y la endodermis se localiza una capa de células parenquimatosas no especializadas, denominada periciclo, que se derivan de las mismas células iniciales que dan origen a los tejidos conductores.

En gimnospermas y dicotiledóneas existe un tejido meristemático que rodea al xilema, llamado cambium vascular, que es responsable del crecimiento radial de los órganos (Fahn, 1989).

Todos estos tejidos, se forman por la división, elongación, diferenciación y maduración de las células originadas del meristemo apical. En el análisis estructural de la raíz de chícharo se ha observado que cada fila de células o tejido, actúa de manera independiente a sus vecinas, aunque sus procesos de división, elongación y diferenciación están coordinados y se desarrollan armónicamente (Rost y Baum, 1988), e incluso suelen coincidir para diversos tejidos, por lo que se pueden distinguir "zonas" a lo largo de la raíz donde tienen lugar preferentemente alguno de estos procesos. Así, la zona meristemática corresponde al sitio donde ocurre la división celular, la zona de elongación corresponde a la región de expansión celular y la zona de especialización corresponde sitio donde sucede principalmente la diferenciación celular (Schiefelbein y Benfey, 1991; Esau, 1977).



## ANTECEDENTES.

Jiménez-Osornio y Schultz (1981), en un estudio sobre las relaciones entre malezas y plantas cultivadas en un agroecosistema tradicional (chinampa) en el Valle de México, encontraron que el crecimiento de las malezas disminuía a mediados del ciclo de cultivo, cuando el maíz estaba maduro y floreciendo. Jiménez-Osornio y cols. (1983), demostraron que el polen del maíz espolvoreado sobre las semillas de *Cassia jalapensis* inhibía marcadamente su crecimiento radical. En relación con esto, algunos campesinos del Valle de México (clima templado), Tabasco y Yucatán (clima tropical), aseguran que la fructificación de la calabaza, el chilacayote y la sandía se reduce, y también que algunas hojas del frijol se "quemán", cuando el polen del maíz cae sobre ellos (Anaya y cols., 1987). Cruz-Ortega y cols. (1988) probaron los efectos del extracto etanólico del polen de maíz sobre el crecimiento, respiración y división celular de la sandía, demostrando algunos de los mecanismos de acción de las sustancias fitotóxicas de este polen. Posteriormente, Anaya y cols. (1992) identificaron al ácido fenilacético (AFA) como uno de los principios bio-activos del polen de maíz, el cual puede contribuir a su efecto alelopático.

El AFA es un ácido carboxílico aromático simple, que pertenece al grupo de los ácidos fenólicos. Su vía de síntesis es a partir de la fenilalanina, que por acción de una aminotransferasa no específica, da origen al ácido fenilpirúvico, y éste por descarboxilación oxidativa se convierte en el ácido fenilacético (Gros, 1981; Bandurski y Nonhebel, 1990; Mathews y Van Holde,

1990). Bitsch y cols. (1984) sugieren que estas reacciones se llevan a cabo en el cloroplasto.

El AFA se ha encontrado de manera natural en varios sistemas biológicos. Nair y Burke (1988) lo caracterizaron en *Aspergillus niger* y comprobaron que inhibe la germinación de semillas de berro y lechuga, además de mostrar actividad antifúngica contra *Cladosporium herbarum*.

El AFA se ha detectado también en las algas *Undaria pinnatifida* (Abe y cols, 1974) y *Enteromorpha compressa* (Fries y Aberg, 1978). Sobre esta última, al igual que sobre *Fucus spiralis* (Fries, 1977) y *Porphyra tenera* el AFA tuvo efectos morfogenéticos.

Schneider y Wightman (1986) detectaron al AFA, junto con el ácido indolacético (AIA), en frondas vegetativas y fértiles de *Matteucia struthiopteris*.

El AFA también se ha identificado en el tabaco (Kimland y cols., 1973; Chuman y Noguchi, 1977). Wightman y Lighty (1982), lo detectaron en diversas especies vegetales, y suponen que la cantidad de AFA presente en los tallos de diversos cultivos varía entre 1 y  $3 \times 10^{-6} \text{M}$ ; estos autores sugieren que el nivel endógeno de AFA y AIA es considerablemente mayor en las regiones de rápido crecimiento.

Chou y Patrick (1976) reportaron la presencia del AFA y otros compuestos en los residuos en descomposición de maíz y centeno en el suelo, los cuales mostraron un efecto inhibitor sobre el crecimiento de la lechuga. Lynch y cols. (1980) detectaron al AFA como uno de los ácidos orgánicos que se liberan durante la

descomposición anaeróbica de los rizomas de *Agropyron repens*.

El AFA también se ha aislado, junto con la myrmicacina, el AIA y otros ácidos, de las glándulas metatorácicas de las hormigas *Atta sexdens*. El papel que supuestamente desempeña junto con los otros compuestos, es el de prevenir la germinación de semillas, la germinación de esporas y el crecimiento de bacterias en sus jardines fúngicos (Schildknecht y Koob, 1971).

Rasmussen y cols. (1990) encontraron al AFA en secreciones temporales en el elefante macho asiático, y examinaron su participación en la comunicación química entre elefantes. También se identificó en el estiércol del cerdo (Yasuhara y Fuwa, 1983).

En los seres humanos, el AFA (en forma de fenilacetato) es un componente natural del plasma sanguíneo que puede suprimir el crecimiento de células tumorales e inducir su diferenciación *in vitro* (Ram y cols., 1994); en individuos fenilcetonúricos se elimina por la orina junto con el fenilactato (Mathews y Van Holde, 1990).

El ácido fenilacético es un compuesto conocido también por su actividad biológica tipo auxina, propiedad a la que hicieron referencia por primera vez Zimmerman y Wilcoxon, así como Haagen-Smit y Went en 1935. En 1957 se introdujo al mercado un herbicida derivado del ácido fenilacético, el ácido 2,3,6-tricloro-fenilacético (FENAC).

De acuerdo con Aberg (1963), "el ácido fenilacético fue muy tempranamente incluido entre las sustancias estándares usadas en

la investigación con auxinas. Sus efectos fisiológicos son bastante bien conocidos y puede ciertamente utilizarse como un buen ejemplo de un regulador con actividad auxínica débil pero bastante pura".

Algunas de las respuestas fisiológicas que provoca la aplicación exógena de auxinas (Brock y Kaufman, 1991) y que se han evaluado para el AFA (tomando como principal referencia a Aberg, 1963) son:

#### **I. A nivel molecular:**

1. Transporte y absorción de agua. Incrementa la permeabilidad al agua y aumenta la permeabilidad al  $K^+$  en células estomáticas (Permadasa, 1982).
2. Respiración aeróbica. Inhibe a la deshidrogenasa succínica.
3. Síntesis de pared celular y recambio de polisacáridos. No tiene efecto sobre la glucan-sintetasa (Ray, 1973), evita el decaimiento en la actividad de la invertasa ácida (Small y Morris, 1990) y acelera ligeramente la tasa de digestión de almidón.
4. Producción de etileno. Estimula la producción de este gas (Machackova y cols., 1981; Suttle y Mansager, 1986).

#### **II. A nivel celular:**

1. División celular. Estimula la proliferación celular en el cambium vascular (Whiting y Murray, 1946) y en cultivos de tejidos vegetales (Volfova y cols., 1982; Milborrow y cols., 1975; Leuba y Letourneau, 1990), mientras que en *Allium* inhibe la mitosis.
2. Elongación celular. Estimula el proceso en tallos (Dubouchet y ZouZou, 1992; Small y Morris, 1990) y lo inhibe en las raíces (Libbert, 1957; Anaya y cols., 1992; Chou y Patrick, 1976).

3. Diferenciación celular. Induce diferenciación de xilema en cultivo de tejidos (Leuba y cols., 1988).

### III. A nivel de órgano y planta completa:

1. Iniciación de raíces adventicias. Estimula el proceso en los fragmentos de tallos de algunas especies.

2. Gravitropismo y fototropismo. A diferencia del AIA que inhibe ambas respuestas a concentraciones mayores a  $10^{-5}M$ , el AFA inhibe la respuesta a la gravedad a concentraciones mayores a  $10^{-4}M$  mientras que la respuesta fototrópica la inhibe a concentraciones mayores a  $10^{-5}M$  (Vierstra y Poff, 1981).

3. Dominancia apical. Puede reemplazar a la yema principal suprimiendo la actividad de las yemas laterales (Prochazka y cols., 1983).

4. Abscisión de las hojas. Aplicado a los pecioloos retarda el proceso (Suttle y Mansager, 1986).

5. Desarrollo del fruto. Induce frutos partenocárpicos (Gustafson, 1936).

Además el AFA, al igual que el AIA, promueve el desarrollo de plántulas a partir de anteras y microsporas (Ziauddin y cols., 1992) e induce el desarrollo de embriones somáticos (Slimmon y cols., 1991).

De la misma forma que muchos compuestos auxínicos son usados como herbicidas, el AFA, es capaz de inhibir la germinación de las semillas a altas concentraciones (Ashton y cols., 1968; Nair y Burke, 1988).

Algunas diferencias entre el AFA y otros compuestos auxínicos (básicamente con el AIA) que pueden influir en su actividad biológica, son:

- Su gran estabilidad en solución acuosa (Leuba y cols., 1989).
- Su poca movilidad y captación por la planta (Aberg, 1963; Morris y Small, 1990; Johnson y Morris, 1987; Morris y Johnson, 1987; Prochazca y Borkovec, 1984).

Esta última propiedad radica al parecer en que no existen proteínas capaces de reconocer y acarrear al AFA, el cual no constituye un sustrato para los acarreadores involucrados en el movimiento polar del AIA; este hecho determina que su penetración en el tejido vegetal sea por difusión. El AFA puede inhibir el flujo del AIA mediado por un acarreador sensible al ácido naftiltalámico (NPA), así como su movimiento a distancia, lo que provoca una inhibición del movimiento polar del AIA y por lo tanto su acumulación en la zona de aplicación del AFA (Johnson y Morris, 1987; Morris y Johnson, 1987).

### OBJETIVO GENERAL

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del AFA sobre el desarrollo del sistema radical de *Amaranthus hypochondriacus* L. durante las primeras 48 horas de incubación.

### OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar el  $CI_{50}$  y comparar las curvas concentración-respuesta del AFA y otras auxinas.
2. Determinar el efecto del AFA al  $CI_{50}$  sobre la germinación y el crecimiento radical de *A. hypochondriacus*.
3. Determinar el efecto del AFA sobre la síntesis de ADN durante las primeras 16 horas de imbibición.
4. Describir la estructura radical de *A. hypochondriacus*.
5. Observar los cambios estructurales provocados por el AFA en raíces desarrolladas a partir de semillas incubadas por 24 y 48 horas en presencia de este compuesto.

## MATERIAL Y METODOS

### 1. MATERIAL BIOLÓGICO

Se utilizaron semillas de *Amaranthus hypochondriacus* L. "alegría" (Amaranthaceae), cosechadas en 1992 y adquiridas en el mercado de Tulyehualco, Delegación Milpa Alta, al sur del Distrito Federal, México. Con 100% de viabilidad y 95 % de germinación.

### 2. EFECTOS SOBRE GERMINACION Y CRECIMIENTO

#### 2.1. Curvas concentración-respuesta

Estos bioensayos se realizaron, aplicando soluciones acuosas de ácido fenilacético (AFA), ácido para-hidroxi-fenilacético (PHFA), ácido indolacético (AIA) y ácido 2,4 dicloro-fenoxiacético (2,4-D), en concentraciones de  $10^{-3}$  a  $10^{-12}$ M. Se adicionaron 1.5 ml de cada solución sobre un círculo de papel Whatman num. 42, colocado en una caja de Petri de 5.5 cm de diámetro. Se utilizaron 4 cajas de Petri por tratamiento, con 10 semillas cada una. En todos los bioensayos se incluyó un testigo con agua destilada. En el caso del 2,4-D, que se solubilizó inicialmente en una cantidad mínima de acetona, se incluyó una serie control de agua:acetona en diluciones equivalentes a las elaboradas con el compuesto. Los tratamientos se asignaron al azar, teniendo como unidad experimental a cada caja de Petri con 10 semillas.

Las semillas se incubaron en la obscuridad por 48 horas a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ . Posteriormente, se midió la longitud radical de cada plántula y se calculó el porcentaje de germinación para cada



tratamiento. La protusión de radícula se tomó como criterio de germinación.

Con los datos de la longitud radical se realizó un análisis de varianza, y para definir cuales tratamientos mostraban diferencias significativas respecto al testigo, se aplicaron las pruebas de rango múltiple de Duncan y la de Newman-Keels ( $\alpha = 0.05$ ). Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el paquete estadístico Number Cruncher Statistical System (NCSS) versión 4.21 (Apéndice 1).

Las curvas de concentración-respuesta para cada compuesto, se obtuvieron al graficar la longitud radical promedio para cada concentración contra el logaritmo en base diez de la concentración molar. En estas curvas se calculó gráficamente la concentración capaz de provocar un 50% de inhibición del crecimiento radical ( $CI_{50}$ ).

Las semillas no germinadas después de las 48 horas de incubación, se sometieron a una prueba de recuperación y de viabilidad.

## **2.2 Prueba de recuperación**

Esta prueba consistió en enjuagar y resembrar con agua destilada a las semillas previamente expuestas a alguno de los compuestos de prueba. Posteriormente se continuó su incubación por 24 horas más en las mismas condiciones del inciso 2.1. Transcurrido este tiempo se registró el porcentaje de germinación y la longitud radical.

### 2.3 Prueba de viabilidad

Las semillas en recuperación que continuaron sin mostrar signos aparentes de germinación, se enjuagaron con agua destilada y se les aplicó una solución al 0.25% de cloruro de 2, 3, 5, trifenil tetrazolio durante 24 horas, a  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$  en la obscuridad (Moreno, 1984). Transcurrido este tiempo se eliminó la solución de tetrazolio y las semillas se lavaron varias veces con agua corriente, dejándolas finalmente en agua destilada.

Después se examinaron las semillas, con la ayuda de una lupa estereoscópica, para determinar la intensidad y distribución del color rojo brillante indicativo de actividad metabólica en los embriones.

### 2.4 Efecto del AFA sobre la germinación y el crecimiento radical

Con el fin de observar si el efecto del AFA se limita al crecimiento radical y/o a la germinación de *A. hypochondriacus*, se probó una concentración equivalente a su  $\text{CI}_{50}$  para determinar su efecto en función del tiempo.

Estos bioensayos se realizaron, en condiciones similares al inciso 2.1, utilizando lotes de 100 semillas (repartidas en 10 cajas de petri de 5.5 cm de diámetro), las que se trataron durante 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 y 48 horas con la  $\text{CI}_{50}$  del AFA. Paralelamente se pusieron, en las mismas condiciones de germinación, lotes testigos con semillas en agua destilada. En este caso cada semilla correspondió a la unidad experimental.

Para cada grupo de semillas, se calculó el porcentaje de

germinación y la longitud radical promedio de las plántulas. Estos datos se graficaron contra el tiempo, para tener una idea de la dinámica de estos procesos en presencia y ausencia del AFA.

Para determinar si había diferencia significativa entre los datos de longitud radical promedio, se calcularon sus respectivos intervalos de confianza.

### 3. Síntesis de ADN

#### 3.1. Curva de incorporación de $^3\text{H}$ -timidina (técnica modificada de Cruz-García, 1993).

Se incubaron 0.2g de semillas de *A. hypochondriacus* en un disco de papel Whatman num. 42, colocado en un vial, al que se le adicionaron 225  $\mu\text{l}$  de la solución de AFA +  $^3\text{H}$ -timidina (lote experimental), o 225  $\mu\text{l}$  de agua destilada +  $^3\text{H}$ -timidina (lote testigo) [ver apéndice 2]. Se realizaron dos repeticiones por tratamiento en condiciones de esterilidad. La incubación se hizo por 4, 8, 12 y 16 horas, en la obscuridad a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Una vez concluída la incubación, las semillas se lavaron con citrato de sodio al 1%, se enfriaron con  $\text{N}_2$  líquido y luego se almacenaron a  $-70^\circ\text{C}$ , para su subsecuente procesamiento.

Una vez reunidas todas las muestras, cada lote de semillas se homogenizó en un mortero y se le agregaron 2 ml de la solución de lisis (ver apéndice 2). Al homogenizado se le agregaron 2 ml de ácido tricloro-acético (TCA) al 20 % y se dejó en hielo durante una hora.

La marca radiactiva incorporada al ADN, se determinó en el

precipitado formado en cada tubo, el cual se tamizó mediante un filtro de fibra de vidrio, lavándolo 2 veces con TCA al 5%. Después se hicieron otros lavados con TCA al 10% (2 veces) y 2 veces con etanol al 90%.

Los filtros se secaron en una estufa a 60°C durante una hora. La radiactividad se cuantificó en un contador de centelleo (Packard, Minaxi-4330), colocando los filtros en viales que contenían 5 ml del líquido de centelleo (ver apéndice 1). Los resultados fueron expresados en términos de actividad específica (cpm/mg de peso seco de las semillas).

#### **4. EVALUACION ESTRUCTURAL**

##### **4.1. Estructura radicular**

Semillas de *A. hypochondriacus* se embebieron en agua destilada por 24 horas a 4°C en la obscuridad. Se disectaron los embriones en una gota de fijador, formaldehído-ácido acético-alcohol etílico-agua destilada 2:1:10:7 v/v (FAA), con ayuda de una lupa estereoscópica. Se continuó el proceso de fijación durante 30 minutos al vacío, y posteriormente, durante un mínimo de 48 horas a temperatura ambiente. Los embriones se lavaron con agua destilada y se realizaron varios cambios en un lapso de 30 minutos. Después se deshidrataron sumergiéndolos durante 15 minutos en soluciones de alcohol etílico de menor a mayor concentración: un cambio en las soluciones de 30, 40, 50, 60, y 70%, dos en la de 80%, y cuatro en las de 90 y 100%.

Los embriones se infiltraron con una solución de alcohol

absoluto y mezcla de preinclusión del kit de JB-4 de Polysciences (consistente en solución A más catalizador), en proporciones 2:1, 1:1 y 1:2, dejándolos un mínimo de 4 horas en cada una. Posteriormente permanecieron 24 horas en la mezcla de preinclusión sola; durante las primeras 8 horas se les aplicó vacío. Finalmente, se incluyeron en mezcla de preinclusión nueva, la que se polimerizó, a temperatura ambiente, por la adición de la solución B del mismo kit de JB-4, en cápsulas BEEM.

Los bloques obtenidos se cortaron con un ultramicrotomo (Sorvall MT-2) con un grosor de 1 a 1.5 micrómetros e inmediatamente se tiñeron con azul de toluidina al 1% en solución de borato.

#### **4.2. Efecto del AFA sobre la estructura del ápice radical**

Se obtuvieron ápices radicales a partir de semillas incubadas en las mismas condiciones del inciso 2.4 por 24 y 48 horas, en presencia de AFA (lote experimental) o agua destilada (lote testigo).

Puesto que los procesos de germinación y crecimiento radical no son sincrónicos en todas las semillas, una vez concluido el tiempo de incubación, se tomaron muestras de las raíces cuya longitud radical correspondía a la moda observada para cada lote. Estas muestras fueron de un tercio de la longitud total de la raíz para las plántulas con 24 horas de desarrollo, y de un noveno para las plántulas con 48 horas de desarrollo.

Las muestras se procesaron como se señala en el inciso 3.1,

aunque se eliminó el paso de vacío en la fijación.

Se analizaron los cortes medianos de al menos 6 raíces en cada lote, tomando en cuenta el aspecto, punto de diferenciación y punto de maduración de cada tejido. Para realizar las mediciones, siempre se tomó como punto de referencia al caliptrógeno.

En general, el criterio que se aplicó para establecer los puntos de diferenciación y maduración, fue el de Popham (1955), quien considera como elementos diferenciados, a las células o los tejidos que han llegado a ser distintos, morfológica o fisiológicamente, de las células o tejidos adyacentes, y que por lo mismo, permiten el reconocimiento de su individualidad.

Las datos numéricos obtenidos del análisis estructural se evaluaron estadísticamente por la prueba de T-Student.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### 1. EFECTO SOBRE GERMINACION Y CRECIMIENTO

#### 1.1. Curvas de concentración-respuesta

En vista de que el 2,4-D es un compuesto insoluble en agua, fue necesario realizar la búsqueda de un disolvente orgánico que no afectara ni la germinación ni el crecimiento radical de *Amaranthus hypochondriacus*. Este disolvente fue la acetona. En la figura 1 se muestra el efecto de diversas concentraciones de acetona sobre la germinación y el crecimiento radical de *A. hypochondriacus*. En esta figura se puede apreciar que la acetona prácticamente no tiene efecto sobre la germinación y el crecimiento radical. Estas concentraciones del disolvente fueron equivalentes a las utilizadas para la curva concentración-respuesta del 2,4-D.

Las figuras 2, 3, 4 y 5 corresponden a las curvas concentración-respuesta de germinación y crecimiento radical al AFA, al PHFA, al AIA y al 2,4-D respectivamente; en estas figuras se puede observar que el crecimiento radical es más sensible a las variaciones en la concentración, comparado con la germinación.

En las curvas concentración-crecimiento radical se notan dos tendencias, una sigmoideal para el AIA y el 2,4-D y una exponencial para el AFA y el PHFA. La tendencia sigmoideal obtenida con AIA y 2,4-D, concuerda con lo reportado para *Lepidium sativum* (Cartwright, 1976; Ochs, 1954). Mientras que la tendencia de la curva con AFA se asemeja mucho a la reportada por Aberg (1963) para raíces de trigo. No se encontraron reportes de curvas concentración-respuesta

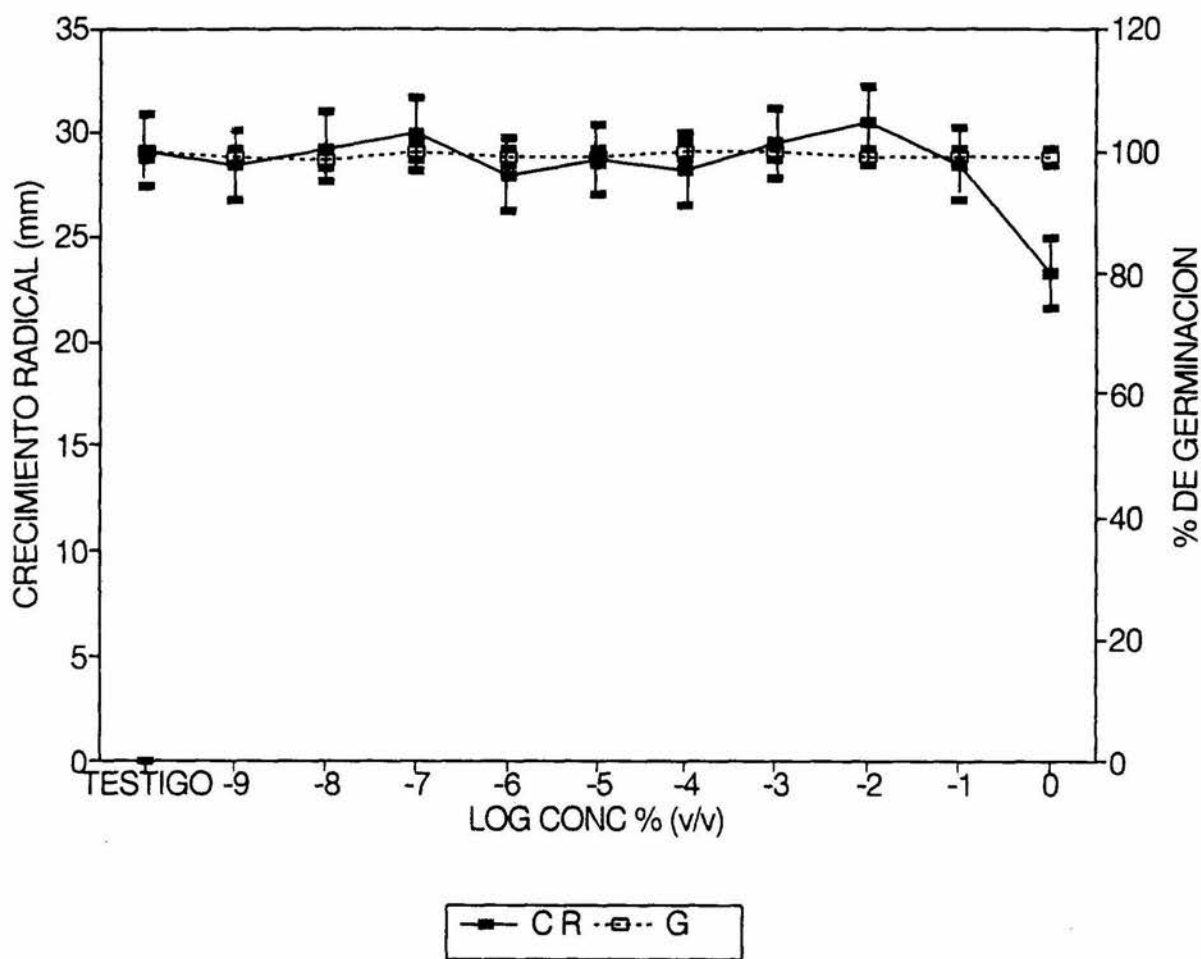


FIGURA 1. Efecto de la acetona sobre la germinación y crecimiento radical de *A. hypochondriacus*. CR= crecimiento radical, G= % de germinación.



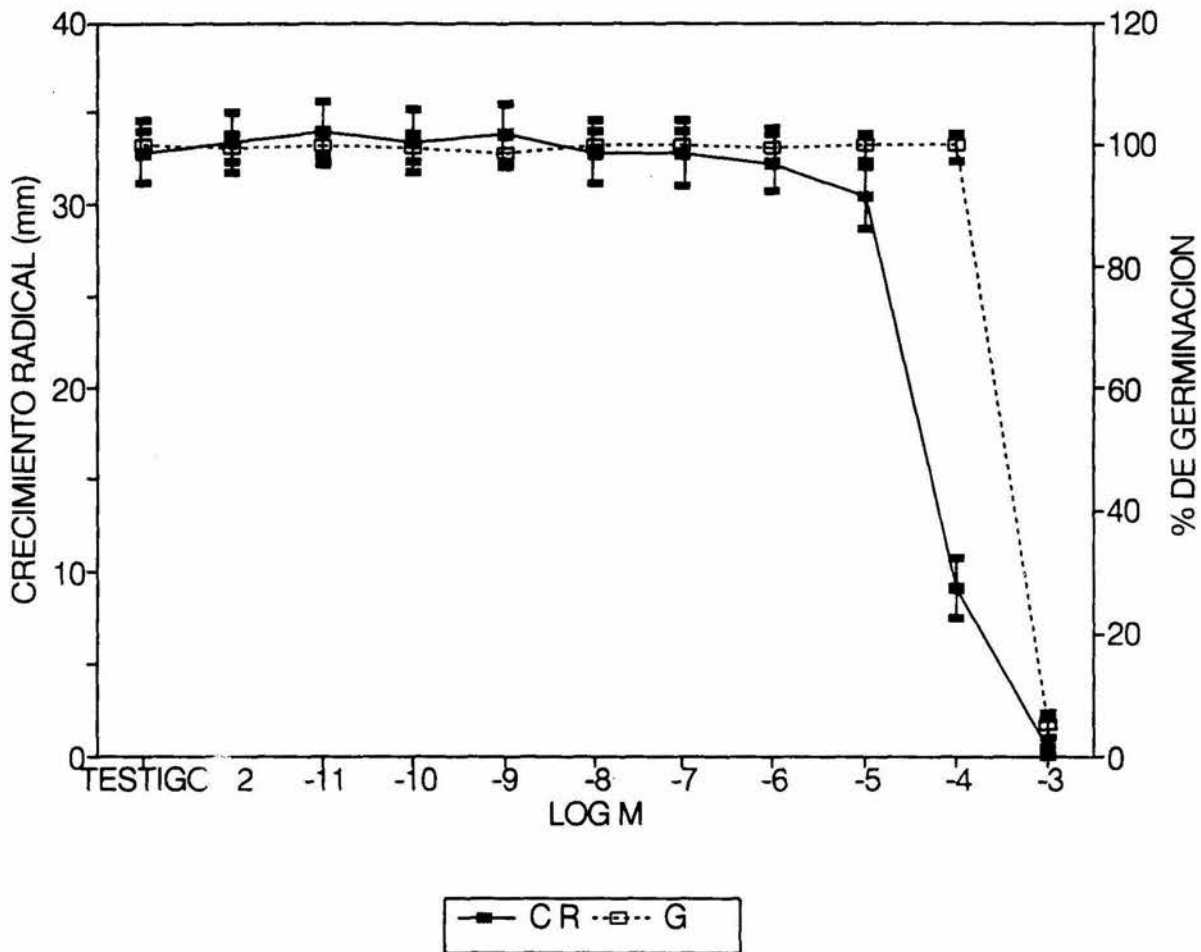


FIGURA 2. Efecto de AFA sobre la germinación y crecimiento radical de *A. hypochondriacus*. CR= crecimiento radical, G= % de germinación.

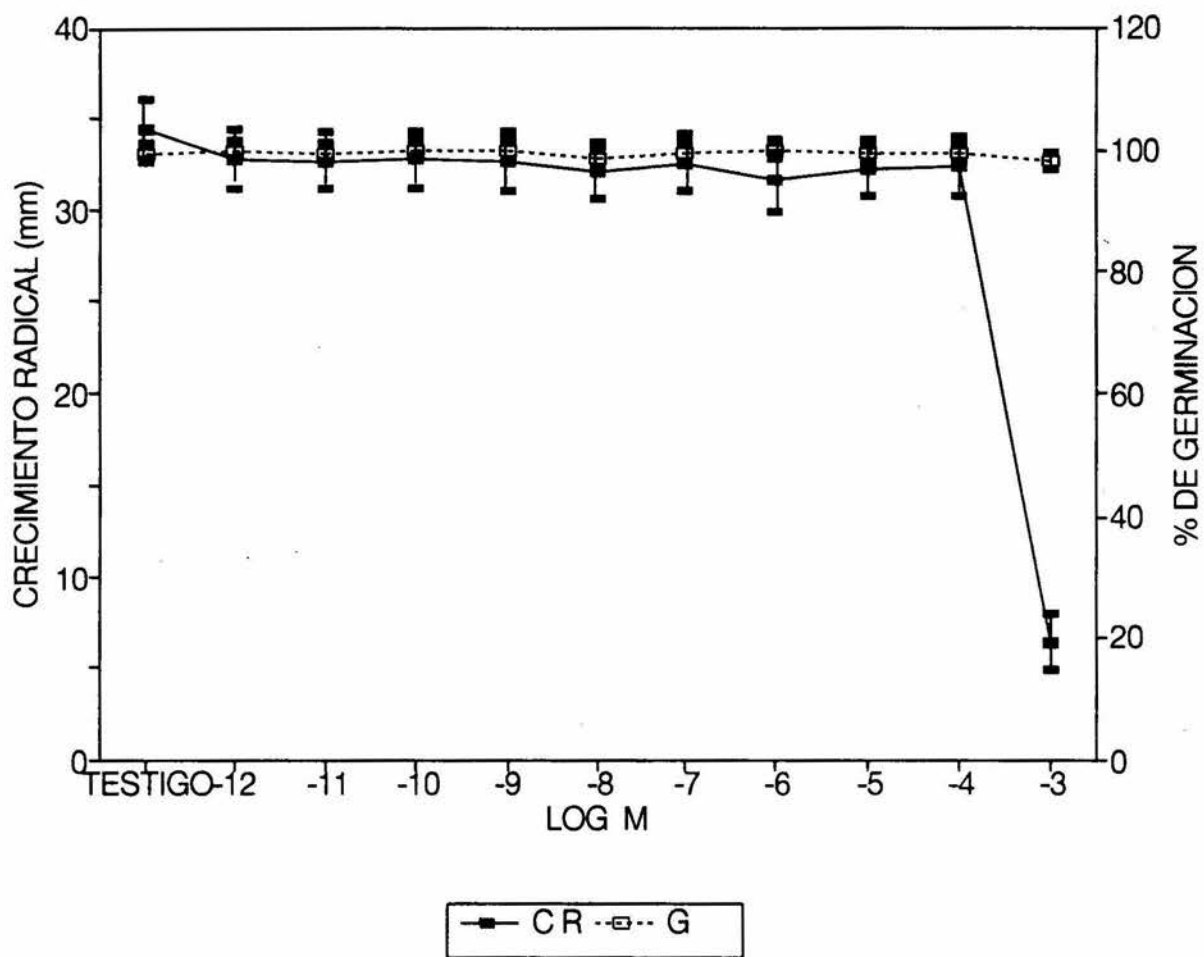


FIGURA 3. Efecto de PHFA sobre la germinación y crecimiento radical de *A. hypochondriacus*. CR= crecimiento radical, G= % de germinación.

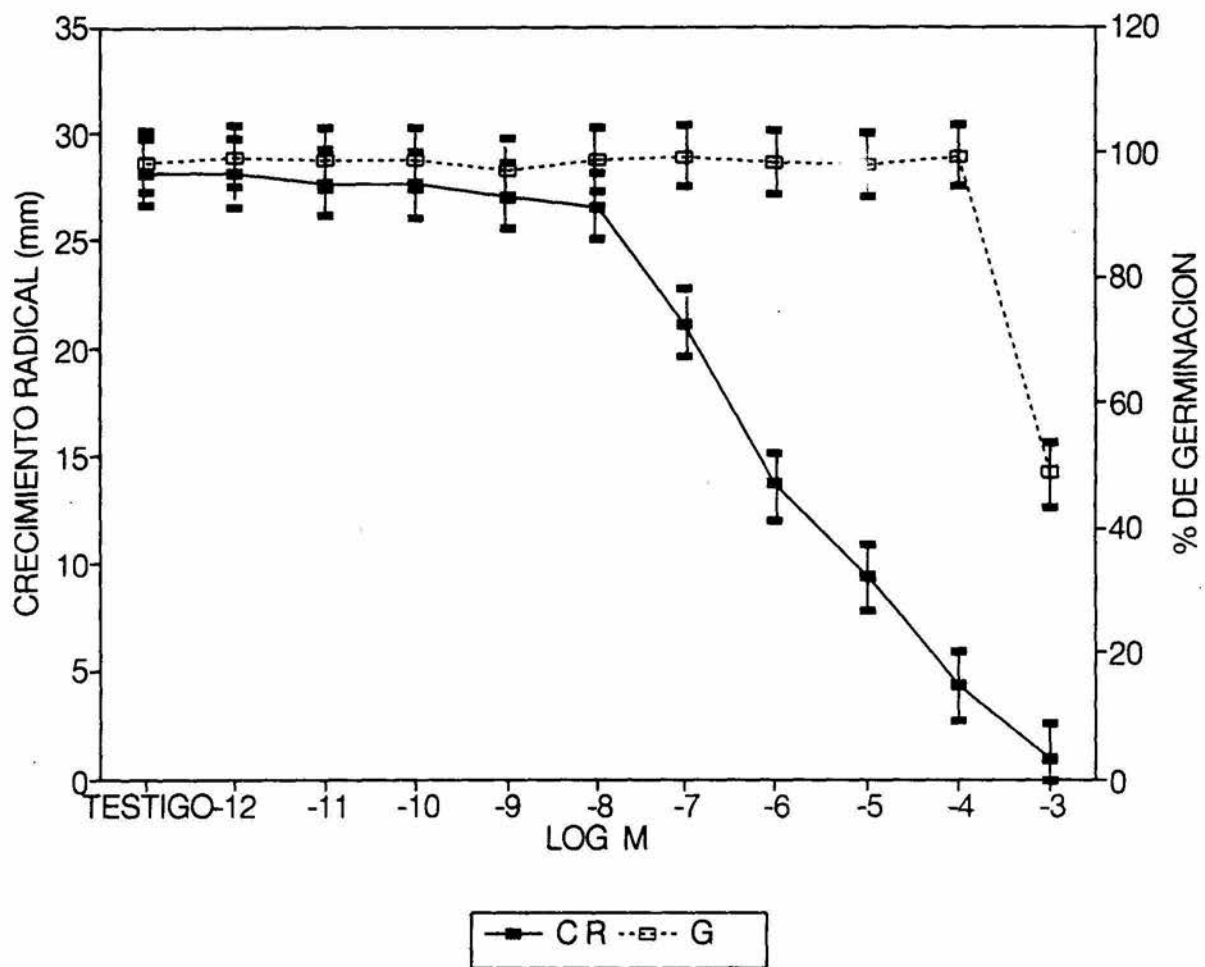


FIGURA 4. Efecto de AIA sobre la germinación y crecimiento radical de *A. hypochondriacus*. CR= crecimiento radical, G= % de germinación.

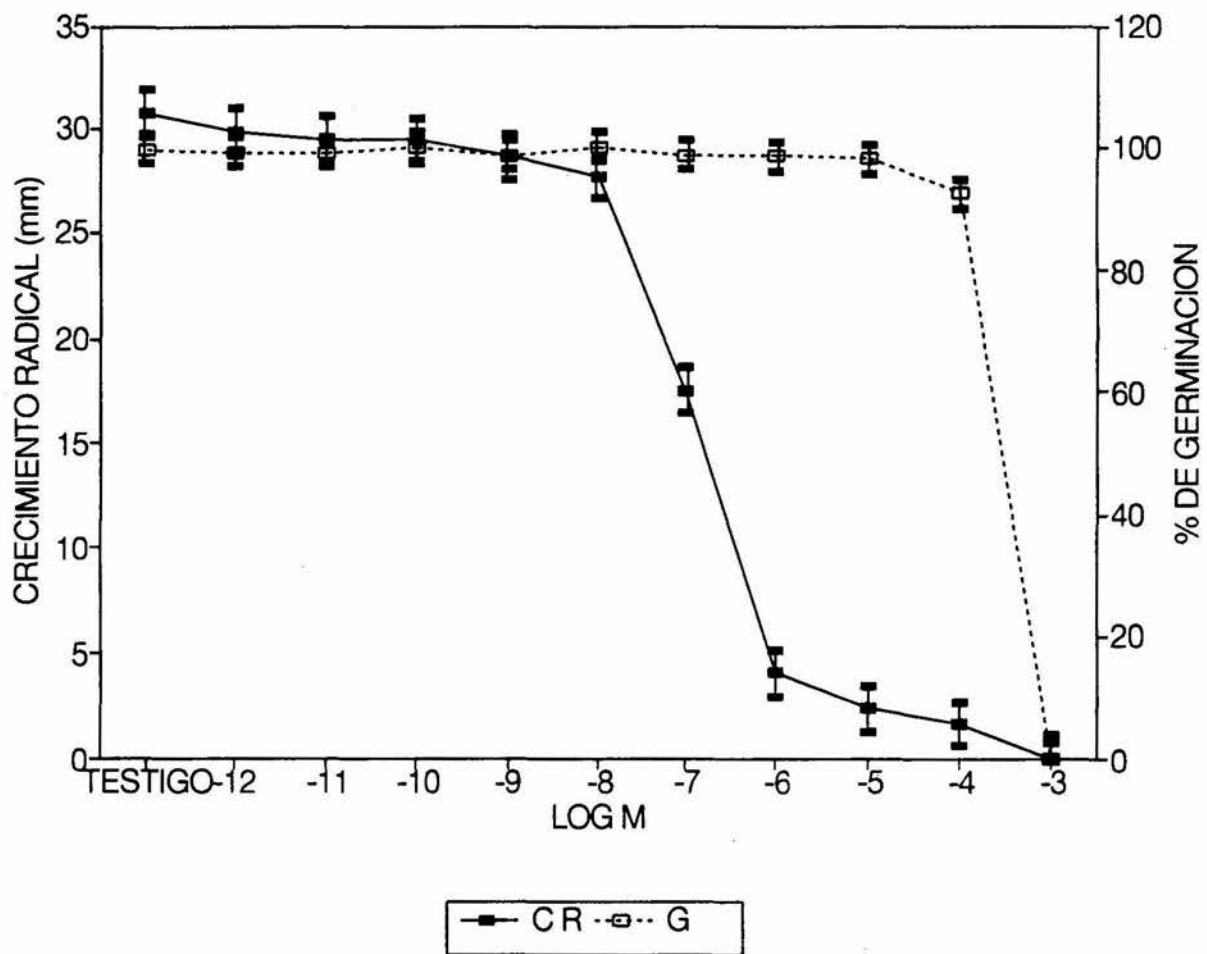


FIGURA 5. Efecto de 2,4-D sobre la germinación y crecimiento radical de *A. hypochondriacus*. CR= crecimiento radical, G= % de germinación.

de germinación y crecimiento radical al PHFA, sin embargo, en el trabajo de Abe y cols. (1974), se considera su actividad auxínica; teniendo en cuenta su similitud estructural con el AFA, podemos suponer que la curva obtenida para este compuesto es congruente.

Respecto a la respuesta de la germinación (Figs. 2, 3, 4, y 5) como ya se mencionó, se puede observar que este proceso se ve muy poco afectado por el tratamiento con auxinas a las concentraciones probadas; el PHFA fue el único compuesto que no afectó la germinación de *A. hypochondriacus*. La concentración más alta ( $10^{-3}$  M) de AIA, AFA y 2,4-D, inhibió la germinación de *A. hypochondriacus* en un 50, 95 y 100 % respectivamente. Las semillas inhibidas por estos tres compuestos no se recuperaron; en el caso del 2,4-D, la prueba con tetrazolio fué negativa, indicando la muerte de los embriones.

El efecto del 2,4-D sobre la germinación, también se ha reportado sobre *Cucurbita pepo* (Ashton y cols., 1968) y *Lepidium sativum*; la germinación de esta última especie es inhibida totalmente a una concentración de 10 ppm, equivalente a una solución  $4.52 \times 10^{-5}$  M de 2,4-D (Audus, 1965).

El efecto del AFA como inhibidor de la germinación se había reportado con anterioridad para las semillas de berro y lechuga (Nair y Burke, 1988).

En la tabla 1 se muestran los valores de  $CI_{50}$  para PHFA, AFA, AIA y 2,4-D. El orden de actividad de los compuestos es PHFA < AFA < AIA < 2,4-D; que corresponde inversamente al orden de solubilidad de estos compuestos en agua, PHFA > AFA > AIA > 2,4-D (The

Merck Index, 1989). Este orden de actividad concuerda con el establecido para AFA, AIA y 2,4-D sobre raíces de *Lepidium sativum* (Ochs, 1954).

Compuesto	Concentración Molar
PHFA	$4 \times 10^{-4}$
AFA	$4 \times 10^{-5}$
AIA	$10^{-6}$
2,4-D	$10^{-7}$

**TABLA 1.** Concentración que provoca el 50% de inhibición (CI<sub>50</sub>) del crecimiento radical de *A. hypochondriacus* a las 48 horas de desarrollo de la plántula.

Street y Opik (1984), definen a las auxinas como compuestos que en concentraciones muy bajas (entre  $10^{-3}M$  y  $10^{-12}M$ ), promueven el crecimiento, por elongación, de segmentos de coleótilos e hipocótilos de plántulas. Sin embargo, estas mismas concentraciones son capaces de inhibir el crecimiento de las raíces (Cholodny, 1928); efecto que se comprobó en el presente trabajo (Figs. 2, 3, 4 y 5).

A concentraciones muy bajas (alrededor de 1 parte en  $10^{11}$  equivalente a  $5.71 \times 10^{-11} M$  de AIA), las auxinas pueden estimular el crecimiento de las raíces (Libbert, 1957; Audus, 1965), al menos temporalmente (Cartwright, 1976). Sin embargo, esto no se observó en el presente trabajo debido probablemente a que las mediciones se realizaron cuando el efecto de estimulación ya no era evidente,

dada la gran velocidad a la que se desarrolla la raíz de *A. hypochondriacus*.

Los resultados obtenidos con AFA (Fig. 2) muestran que la inhibición que provoca sobre la germinación y crecimiento radical, depende de la concentración, como se ha reportado para otros compuestos auxínicos (Aberg, 1963; Audus, 1965; Cartwright, 1976).

Como se mencionó, las diferencias de la curva concentración-crecimiento del AFA, así como su menor actividad respecto al AIA y al 2,4-D, podrían estar relacionadas con la carencia de acarreadores (Morris y Johnson 1987; Johnson y Morris, 1987) que reconozcan al AFA y en consecuencia, faciliten su captación y transporte a través de la planta.

### **1.2. Efecto del AFA sobre la germinación y el crecimiento radical**

Las primeras semillas de *A. hypochondriacus* germinaron a las 12 horas de incubación, tanto en el lote testigo como en el lote experimental (tratado con AFA a la  $CI_{50}$ ). Lo cual indica que los primeros eventos que conducen a la protusión de la radícula, como la elongación celular (Obroucheva, 1981), no se ven afectados.

La figura 6 muestra el efecto del AFA sobre el crecimiento radical; tanto la curva de crecimiento del lote testigo como la del experimental, presentan una tendencia sigmoideal. La diferencia más evidente entre las dos curvas es la duración de la fase lag, que en el testigo es de 6 horas y en el tratado con AFA es de 18 horas. Esto, que en realidad constituye un retraso en el crecimiento radical, parece ser la causa de la diferencia en longitud que se

registra entre ambos lotes a las 48 horas.

La figura 7 muestra el efecto del AFA sobre la germinación; de hecho, lo único que se puede observar es que las curvas tienden a desfasarse ligeramente durante las primeras 36 horas de incubación, pero esta diferencia desaparece en tiempos posteriores. Con base en estos resultados, se deduce que el AFA no tiene un efecto importante sobre la germinación, considerada ésta como la protusión de la radícula de *A. hypochondriacus*.

De acuerdo con lo anterior, se puede afirmar que el aumento en la duración de la fase lag relacionada con la presencia de AFA en el medio de germinación, no involucra un retraso en la germinación sino un retraso en el crecimiento de la raíz. Los resultados obtenidos en este y el anterior inciso (1.1), sugieren que este retraso puede ser la consecuencia de alteraciones en la división celular más que en la elongación celular, procesos que son necesarios para establecer los patrones zonales de la raíz en crecimiento (Obroucheva, 1981). La acción del AFA podría estar influyendo en la transición de embrión maduro quiescente a plántula en crecimiento activo, proceso que se caracteriza por la presencia ó aparición de proteínas específicas, que en su mayoría no han sido identificadas. Una de estas proteínas cuya síntesis está regulada por auxinas (a nivel de expresión génica), es la "germina" identificada en el trigo (Lane, 1991).



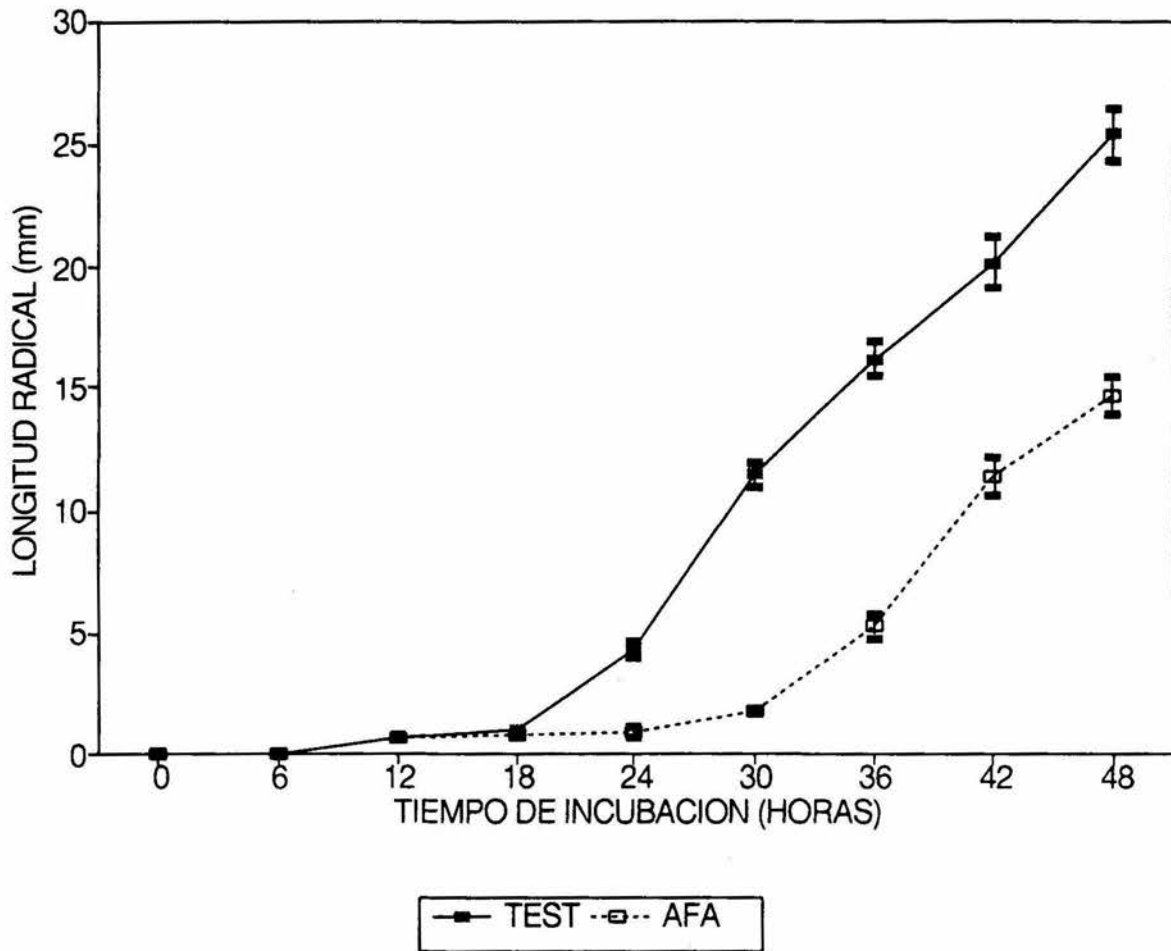


FIGURA 6. Efecto del AFA ( $4 \times 10^{-5}M$ ) sobre la curva de crecimiento radical, durante las primeras 48 horas del desarrollo de la plántula de *A. hypochondriacus*. TEST=testigo, AFA=ácido fenilacético

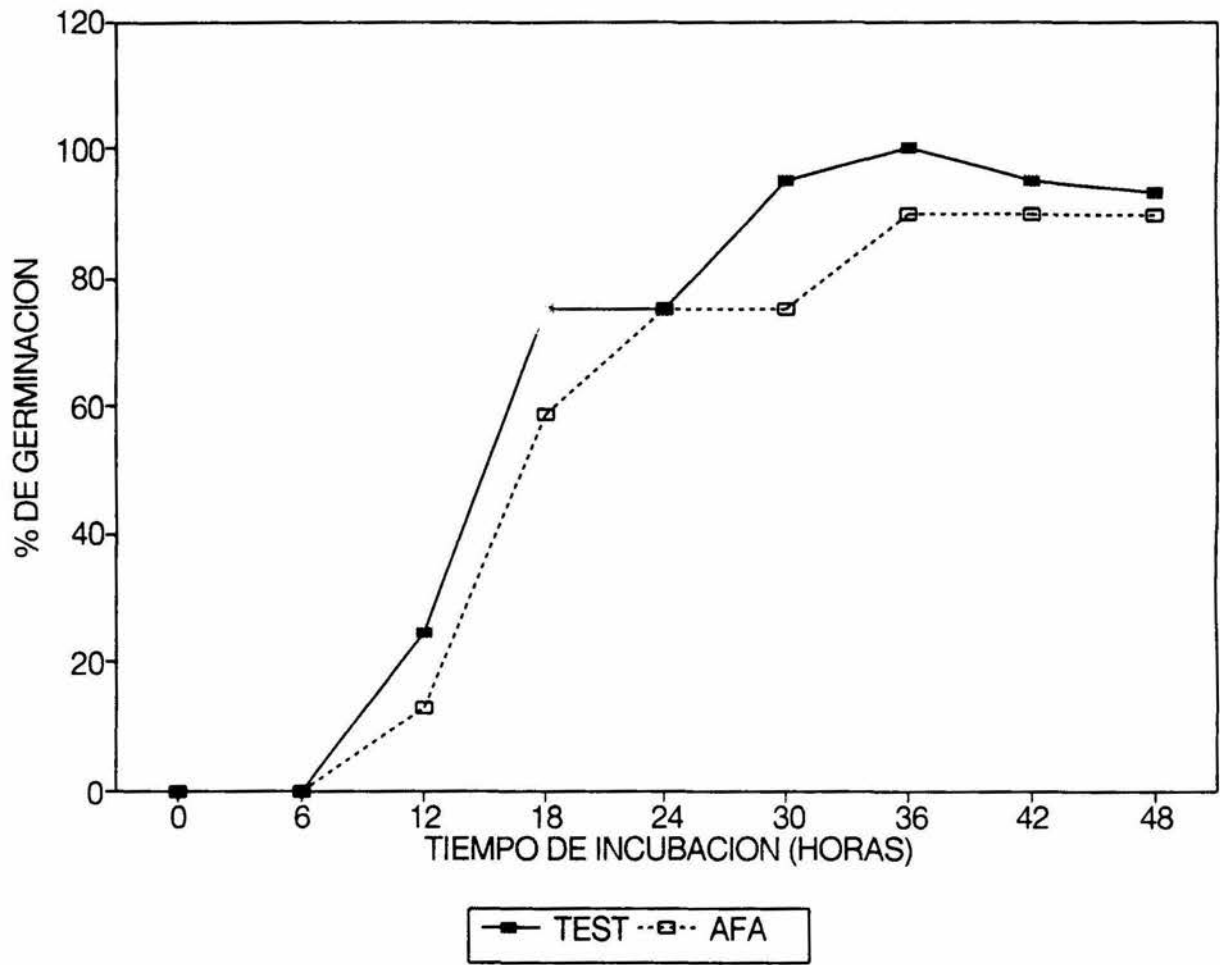


FIGURA 7. Efecto del AFA ( $4 \times 10^{-5}M$ ) sobre la cinética de germinación de semillas de *A. hypochondriacus*. TEST=testigo, AFA=ácido fenil-acético

## 2. SINTESIS DE ADN

Una de las causas del crecimiento radical es el aumento en el número de células que constituyen a la raíz. Estas células se originan por la división celular del meristemo.

Para que la proliferación celular pueda llevarse a cabo es indispensable la replicación del ADN. Un método utilizado para evaluar este proceso consiste en cuantificar la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina, ya que este tipo de base nitrogenada se incorpora específicamente al ADN.

La figura 8 muestra los resultados del efecto del AFA sobre la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina durante la imbibición de las semillas de *A. hypochondriacus*.

El lote testigo mostró un incremento constante en la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina, a diferencia del lote experimental donde permaneció prácticamente sin variación en el lapso de tiempo considerado. Probablemente la incorporación de timidina que se registra en el lote experimental y durante las primeras 12 horas de incubación en el lote testigo sea fundamentalmente de tipo reparativo y organelar, como se ha detectado durante las primeras horas de imbibición en el maíz (Zaraín y cols., 1987). Probablemente el incremento en la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina, que sucede después de las 12 horas de imbibición, se deba a que algunas células empiezan a replicar su ADN.

Existen varios reportes sobre el efecto de diversos compuestos auxínicos en la proliferación celular. En *Allium*, el 2,4-D provoca alteraciones del huso y formación de c-pares, cromosomas de

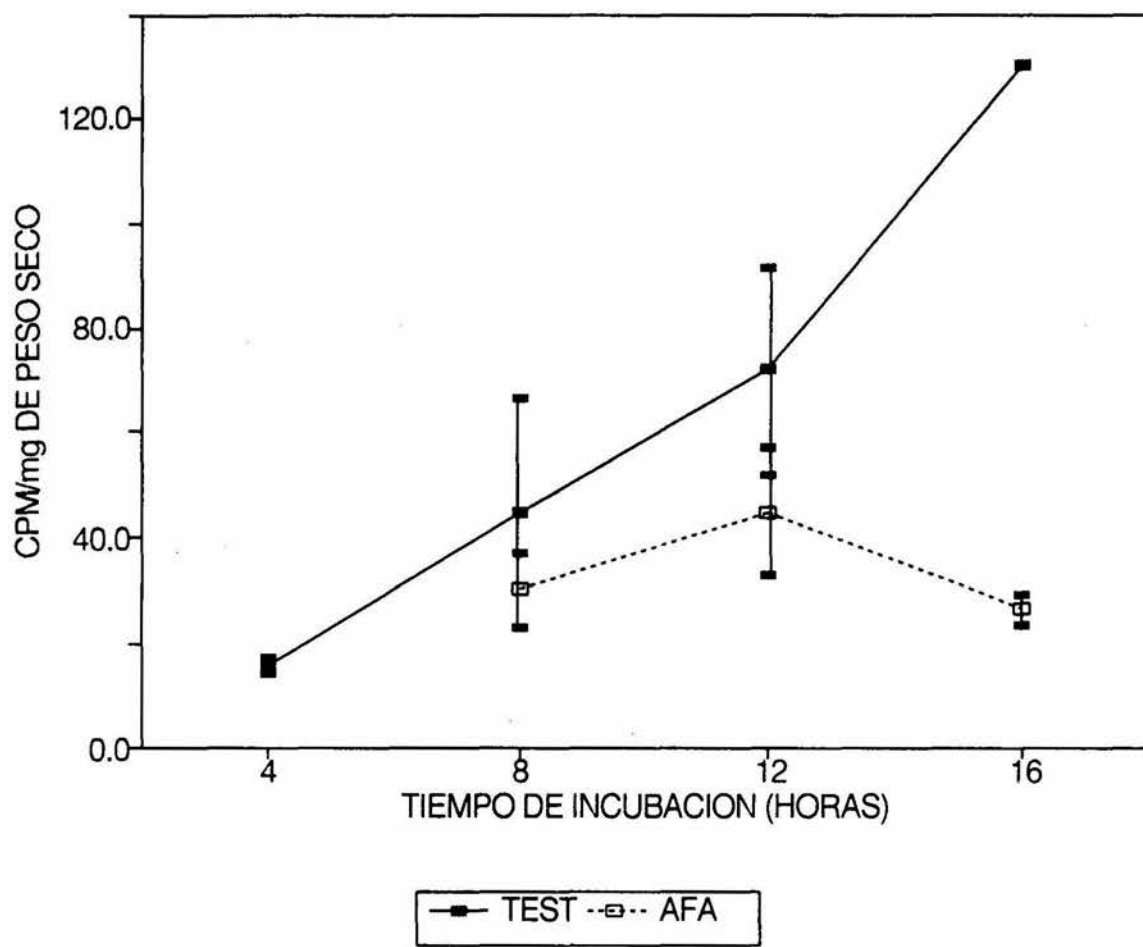


FIGURA 8. Efecto del AFA sobre la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina en semillas de *A. hypochondriacus* durante su imbibición. TEST=testigo, AFA=ácido fenil-acético

extremos pegajosos y puentes cromatínicos en anafase y telofase, e incluso núcleos poliploides y micronúcleos; el tratamiento prolongado (por semanas) con este compuesto, destruye al meristemo principal (Linck, 1976, Pavlica y cols., 1991); en cambio el AIA en la misma especie, bloquea la transición de G2 a profase (Goodwin, 1978).

Hirt y cols. (1991) encontraron que los niveles de expresión del gen *cdc2Ms* de *Medicago sativa* (relacionado con *cdc2*), cambia por la adición de auxinas durante la inducción de la embriogénesis somática. Martínez y cols. (1992), reportan que el AIA (a ciertas concentraciones) induce la expresión de *cdc2* en raíces de *Arabidopsis thaliana*, lo que está relacionado con un incremento en el número de primordios radicales.

Esta posible relación entre las auxinas y el gen *cdc2*, puede ser de gran importancia durante el desarrollo de la plántula, ya que este gen codifica para la proteína-quinasa p34 que es un componente clave para el ciclo celular en eucariontes, pues se requiere para la transición de G1 a S y de G2 a mitosis (Pines, 1994).

Los resultados hasta aquí obtenidos sugieren que el AFA a la  $CI_{50}$ , no afecta la protusión de la radícula (que fue el criterio de germinación aquí considerado), sino que provoca un aumento en la fase lag de la curva de crecimiento (Fig. 6) al interferir con la proliferación celular, cuya activación puede definir el paso de embrión quiescente a plántula en crecimiento activo.

Probablemente este efecto sea común a otros compuestos auxínicos, como se deduce de las figuras 2, 3, 4, y 5, donde se puede observar que en algunas concentraciones la tasa de germinación es prácticamente igual a la del control mientras que el crecimiento radical es significativamente menor (apéndice 1). Este comportamiento es muy evidente con el 2,4-D, para el intervalo de  $10^{-4}$  a  $10^{-6}$ M (Fig. 5).

### 3. EVALUACION ESTRUCTURAL

#### 3.1. Estructura radicular

Para tener un marco de referencia adecuado y poder evaluar los cambios que sufre el ápice radical durante el desarrollo de la raíz, fue necesario establecer la organización radical característica de *A. hypochondriacus*, partiendo de la consideración de que su organización debe ser definida desde la etapa embrionaria.

Al igual que Pal y cols. (1990), en el presente trabajo se observó que el embrión de *A. hypochondriacus* presenta una radícula<sup>1</sup> bien definida (con un diámetro de  $292.11 \pm 26 \mu\text{m}$ ), cuyos límites respecto al hipocótilo no se pudieron definir estructuralmente.

En la figura 9 se muestra el ápice radicular de *A. hypochondriacus*, donde se observa: la cofia o caliptra, la protodermis, el meristemo fundamental y el procambium.

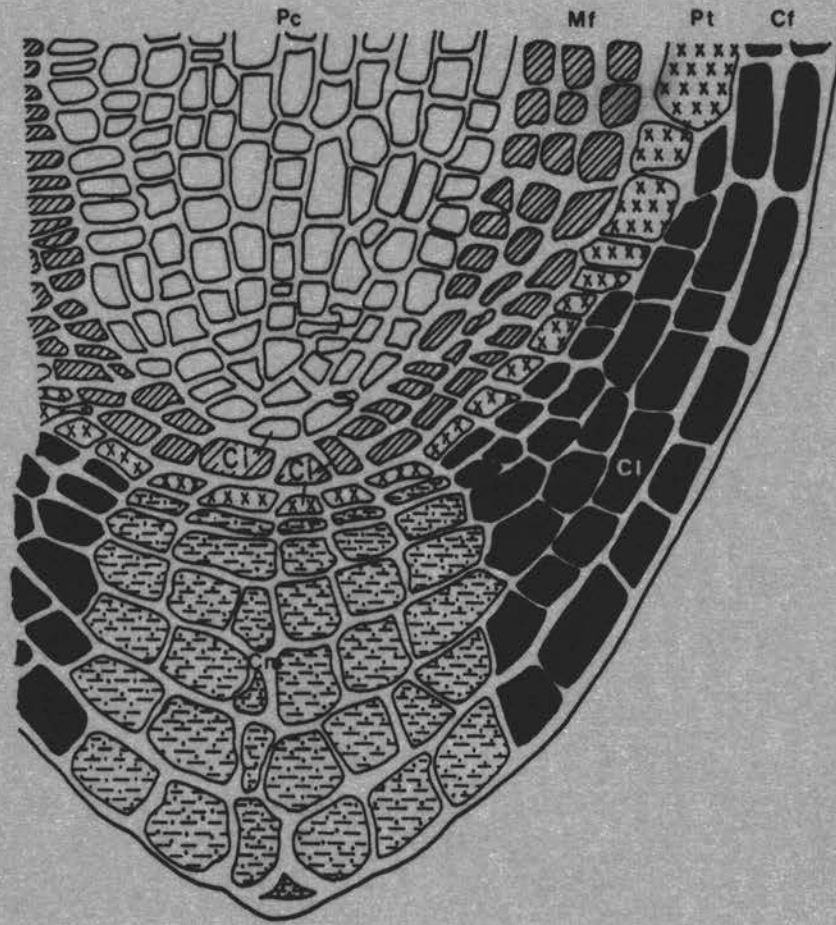
La **cofia** envuelve al ápice de la radícula y está integrada por

---

<sup>1</sup>En este trabajo, el término radícula hace referencia únicamente a la raíz embrionaria.



BIBLIOTECA  
CENTRO DE ECOLOGIA










- |                                                                                                              |                                                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  Mf Meristemo fundamental |  Cm Columnela         |
|  Pc Procambium            |  Cl Células laterales |
|  Pt Protodermis           |  Ci Células iniciales |
|  Cf Cofia                 |                                                                                                          |



FIGURA 9. Fotomicrografía de un corte mediano del ápice radicular de *A. hypochondriacus*. Cf-cofia, Cm-columnela, Cl-células laterales de la cofia, Ci-células inciales, Pt-protodermis, Mf-meristemo fundamental, Pc-procambium y Cu-cutícula. 750X



el caliptrógeno, la columnela y la región lateral.

El caliptrógeno corresponde a las células iniciales de la cofia y de la protodermis; tiene una posición basal (en íntimo contacto con el cuerpo radicular) y está constituido por un estrato de células aplanadas de apariencia rectangular, con el eje mayor perpendicular al eje de simetría de la radícula. El citoplasma de estas células presenta numerosas inclusiones.

La columnela está formada por 6 estratos, en el 1° se observan células de aspecto muy similar a las del caliptrógeno, mientras que las siguientes capas tienen células isodiamétricas que ocupan la región central de la cofia. Estas células tienen un citoplasma heterogeneo donde se pueden observar numerosas inclusiones así como algunas vacuolas esféricas. En el embrión estas células no presentan gránulos de almidón a manera de estatolitos, lo que coincide con lo observado en *Lepidium sativum* (Sievers y Hensel, 1991). En estas células el núcleo es de aspecto uniforme, y en él se distingue un nucleolo rodeado por un halo incoloro. La cofia en esta zona tiene una longitud de  $72.72 \pm 6 \mu\text{m}$  a partir del caliptrógeno.

La región lateral de la cofia está formada por 3 ó 4 capas de células con aspecto más bien rectangular rodeando a la columnela y con el eje mayor oblicuo al eje de simetría de la radícula. El citoplasma de estas células se tiñe intensamente con azul de toluidina y presenta algunas inclusiones y varias vacuolas esféricas que son más numerosas y de mayor tamaño que las de la columnela.

El estrato celular externo de la cofia cubre una longitud aproximada de 450  $\mu\text{m}$  de la radícula, tomando esta distancia a partir del caliptrógeno.

La **protodermis** se localiza en la superficie externa del cuerpo radicular, por debajo de la cofia; está constituida por un estrato con células de apariencia rectangular, cuyo eje mayor es perpendicular al eje de simetría de la radícula; el citoplasma de estas células presenta algunas vacuolas y es menos denso que el de las células de la cofia.

El **meristemo fundamental** se encuentra entre el cilindro central y la protodermis; está constituido por 3 ó 4 filas de células de aspecto rectangular, con su eje mayor perpendicular al eje de simetría de la radícula. El citoplasma de estas células está totalmente lleno de vacuolas de tamaño uniforme y menos teñidas que las de la cofia y la protodermis.

Las hileras celulares de este tejido, convergen en dos o tres células de posición subterminal (por debajo del cilindro vascular), que pueden corresponder a las células centrales, previamente descritas en *Arabidopsis* (Dolan y cols., 1993) y *Raphanus* (Steeves y Sussex, 1991).

El **procambium** se localiza en el cilindro central embrionario y muestra de 8 a 10 hileras de células de apariencia rectangular en un corte mediano, con el eje mayor paralelo al eje de simetría de la radícula. El citoplasma de estas células también se tiñe intensamente y contiene numerosas vacuolas esféricas escasamente teñidas y de tamaño diverso.

Todas las células del cilindro central parecen converger en un grupo de células, por arriba de las centrales, que pueden corresponder a las iniciales del procambium.

El material contenido en las vacuolas de todos los tejidos antes descritos, es probablemente de origen protéico y lipídico, como se ha reportado para el embrión de *A. cruentus* (Irving y cols., 1981). Una gran porción del eje embrionario está cubierto por una capa, a manera de cutícula, que es muy conspicua en el ápice radicular (Fig. 9).

La organización del meristemo radicular de *A. hypochondriacus* es de tipo cerrado, ya que los tejidos o regiones que constituyen a la radícula se pueden delimitar y seguir fácilmente desde o hacia el ápice radical, donde convergen en tres grupos distintos de células iniciales o capas meristemáticas (Esau, 1977). Esta organización del meristemo apical se mantiene durante las primeras 48 horas del desarrollo de la raíz.

### **3.2. Efecto del AFA sobre la estructura del ápice radical**

Se eligió la región apical de las raíces para evaluar el efecto del AFA, porque es en los primeros milímetros cercanos al ápice donde se llevan a cabo los principales procesos de diferenciación y maduración celular de los tejidos durante las primeras horas después de la protusión de la radícula (Sporne, 1974; Popham, 1965).

En las tablas 2 y 3 se muestran, de manera resumida, los

principales parámetros cuantificados en los ápices radicales de las plántulas con 24 y 48 horas de desarrollo del lote testigo (agua destilada) y del lote experimental (AFA). Los criterios considerados en la elaboración de estas tablas fueron:

(1) El caliptrógeno fue el punto de referencia para todas las mediciones. De este estrato celular se originan la protodermis y la cofia, por lo que para esta última, el estrato celular adyacente al caliptrógeno se consideró como el 1°.

(2) El meristemo fundamental da origen a la corteza, la cual está formada por filas celulares que alcanzan su número máximo por medio de divisiones periclinales cerca del ápice; en la raíz de *A. hypochondriacus*, las filas celulares progresan en orden centrípeto, así que la capa más externa se tomó como la 1° y la más cercana al cilindro vascular como la 3°. Esta última, al dividirse periclinamente da origen a la endodermis (fila celular en contacto con el cilindro vascular), por lo que los puntos de diferenciación para ambas hileras coinciden.

Para cada hilera se tomó como punto de diferenciación la zona en donde se distinguía claramente la separación entre ambas filas; esta separación no se observó en la misma posición relativa, así que para fines de comparación, se consideró el punto de separación más cercano al ápice.

(3) Los elementos que constituyen el cilindro vascular, se derivan del procambium, y en vista de que los tipos celulares que constituyen el cilindro vascular son diversos, no fue posible definir los puntos de diferenciación para cada uno ellos; sin

embargo, en un corte se observó que los elementos de metaxilema se diferencian tempranamente e inician su vacuolización muy cerca del ápice, mientras que su maduración (lignificación) se observó cerca del punto de transición raíz/tallo. Se hizo el intento de determinar la aparición de los primeros elementos de protofloema y protoxilema maduros, sin mucho éxito, dado que éstos se disponen principalmente hacia la periferia del cilindro vascular, lo que dificultó su observación en los cortes medianos. Sólo en un corte se pudo distinguir el punto de diferenciación de un elemento de protofloema.

(4) El periciclo se diferencia muy tempranamente en la periferia del cilindro vascular y en *A. hypochondriacus* se observó como una hilera de células parenquimáticas de forma isodiamétrica.

En las tablas 2 y 3 se puede observar que el diámetro del ápice es muy similar para ambos lotes, e incluso se reduce en proporción similar a las 48 horas. Esto no concuerda con lo observado por Rost y Baum (1988) en *Pisum sativum*, donde se establece una estrecha relación entre la longitud de la raíz y el diámetro meristemático, de tal suerte, que a mayor longitud radical menor diámetro del ápice. Esto puede ser muy significativo si consideramos que el AFA inhibe de manera importante el crecimiento radical sin modificar prácticamente el patrón de organización estructural ni los puntos de diferenciación y maduración de los tejidos evaluados. Esto sugiere un efecto del compuesto sobre la elongación celular en la raíz, efecto ampliamente reportado para los compuestos auxínicos (Goodwin, 1972; Van Andel y cols. 1976).

**TABLA 2.** Efecto del AFA sobre la estructura del ápice radical de *A. hypochondriacus* a las 24 horas del desarrollo de las plántulas.

TESTIGO	TRATADA
Longitud radical de $4.25 \pm 0.33$ mm	Longitud radical de $0.87 \pm 0.19^*$ mm
Diámetro apical $352.8 \pm 20.83\mu\text{m}$	Diámetro apical de $357.94 \pm 49.49\mu\text{m}$
Diámetro del cilindro vascular de $94.15 \pm 18.73\mu\text{m}$	Diámetro del cilindro vascular de $112.125 \pm 16.79\mu\text{m}$
La cofia tiene de 6 a 7 estratos celulares en la columnela con un grosor de $171.42 \pm 9.6\mu\text{m}$ ; y 5 capas de células laterales que cubren $1212.67 \pm 304.88\mu\text{m}$ del cuerpo radical.	La cofia tiene de 6 a 7 estratos celulares en la columnela con un grosor de $146.82^* \pm 20.87\mu\text{m}$ ; y 5 capas de células laterales que cubren $706.47^* \pm 122.56\mu\text{m}$ del cuerpo radical.
La columnela muestra plasmólisis celular a partir del 2° ó 3°estrato.	La columnela muestra plasmólisis celular a partir del 4° ó 5°estrato.
La 1° capa de células corticales se diferencia muy temprano, la 2°a $29.09 \pm 3.18\mu\text{m}$ y la 3° a $76.37 \pm 33.95\mu\text{m}$ las que maduran a $595.17 \pm 57.87\mu\text{m}$	La 1° capa de células corticales se diferencia muy temprano, la 2°a $28.05 \pm 4.22\mu\text{m}$ y la 3° a $59.22 \pm 9.05\mu\text{m}$ las que maduran a $613.03 \pm 32.49\mu\text{m}$
La endodermis se diferencia a $76.37 \pm 33.95\mu\text{m}$ y madura a $736.2 \pm 98\mu\text{m}$	La endodermis se diferencia a $59.22 \pm 9.05\mu\text{m}$ y madura a $734\mu\text{m}$
El periciclo se diferencia muy temprano y madura a $945.6 \pm 105.44\mu\text{m}$	El periciclo se diferencia muy temprano y madura a $745.92^* \pm 111.93\mu\text{m}$
La maduración de la epidermis se detectó a $1242.2 \pm 528.37\mu\text{m}$ sin la presencia de pelos radicales.	La maduración de la epidermis se detectó a $892.6 \pm 729.32\mu\text{m}$ sin la presencia de pelos radicales.
Sólo en un corte se observaron elementos de protoxilema maduros a $2250\mu\text{m}$	Sólo en un corte se observaron elementos de protoxilema maduros a $1440\mu\text{m}$

\*  $P < 0.05$



**TABLA 3.** Efecto del AFA sobre la estructura radical de *A. hypochondriacus* a las 48 horas de desarrollo de las plántulas.

TESTIGO	TRATADA
Longitud radical de $25.34 \pm 1.07$ mm	Longitud radical de $14.69^* \pm 0.76$ mm
Diámetro apical $241.92 \pm 29.37$ $\mu\text{m}$	Diámetro apical $255.1 \pm 29.49$ $\mu\text{m}$
La cofia está constituida entre 6 y 8 estratos celulares en la columnela con un grosor de $159.39 \pm 20.68$ $\mu\text{m}$ y 5 estratos de células laterales que cubren $691.2 \pm 220.54$ $\mu\text{m}$ del cuerpo radical.	La cofia está constituida entre 6 y 8 estratos celulares en la columnela con un grosor de $146.49 \pm 10.40$ $\mu\text{m}$ y 5 estratos de células laterales que cubren $805.68 \pm 174.14$ $\mu\text{m}$ del cuerpo radical.
La columnela muestra plasmólisis celular a partir del 3° ó 4°estrato.	La columnela muestra plasmólisis celular a partir del 3° ó 4°estrato.
La 1° hilera de células corticales se diferencia muy temprano, la 2° a $30.54 \pm 8.20$ $\mu\text{m}$ y la 3° a $52.37 \pm 13$ $\mu\text{m}$ , que en maduran a $524.16 \pm 62.7$ $\mu\text{m}$	La 1° hilera de células corticales se diferencia muy temprano, la 2° a $31.51 \pm 4.62$ $\mu\text{m}$ y la 3° a $58.79 \pm 10.36$ $\mu\text{m}$ , las que maduran a $456^* \pm 39.02$ $\mu\text{m}$
La endodermis se diferencia a $52.37 \pm 13$ $\mu\text{m}$ y madura a $612 \pm 41.6$ $\mu\text{m}$	La endodermis se diferencia a $58.79 \pm 10.36$ $\mu\text{m}$ y madura a $504$ $\mu\text{m}$
No se pudo determinar el punto de maduración de la epidermis, sin embargo se observaron pelos radicales alrededor de $1000$ $\mu\text{m}$	No se pudo determinar el punto de maduración de la epidermis, sin embargo se observaron pelos radicales alrededor de $1000$ $\mu\text{m}$
Se identificaron elementos de protoxilema maduros a $1243.5 \pm 357.74$ $\mu\text{m}$ con un diámetro de $7.27$ $\mu\text{m}$	Se identificaron elementos de protoxilema maduros a $1035 \pm 295.78$ $\mu\text{m}$ con un diámetro de $7.27$ $\mu\text{m}$

No se pudo definir el punto de maduración para el periciclo.

\*  $P < 0.05$

De hecho, se ha observado que las células más sensibles al AIA, son las que se ubican en la zona de "elongación" (que no se abarcó en los cortes), tanto para el AIA de origen exógeno (Ishikawa y Evans, 1993; Goodwin, 1978, 1972), como el de origen endógeno (Evans y cols., 1986).

La cofia en las raíces del lote experimental mostró diferencias significativa en sus dimensiones a las 24 horas de incubación, fenómeno que ya no se manifiesta a las 48 horas, probablemente por haber alcanzado previamente la población celular característica de la especie (Hawes y Lin, 1990).

En las condiciones en que se procesó el material, fue muy difícil obtener cofias cuyas células mostraran una estructura interna bien preservada. Así que de las muestras de 24 horas, se obtuvo material apropiado solamente de una raíz testigo y de una raíz experimental. En esta última se observó una menor cantidad de amiloplastos (estanolitos), los cuales no mostraban una distribución particular en las células de la columnela, a diferencia de la raíz testigo en cuya columnela, los amiloplastos se orientaron hacia las paredes laterales (Figs. 10 y 12).

En las muestras de 48 horas se logró obtener una cofia bien preservada en tres raíces del lote testigo y solamente en una raíz del lote experimental. En esta última se observó una menor cantidad de estanolitos, que muestran un arreglo similar a los de la raíz testigo de 24 horas, mientras que en las raíces testigo de 48 horas, éstos se agruparon hacia la base de las células (Figs. 11 y 12). Este hallazgo no representa una evidencia definitiva debido a



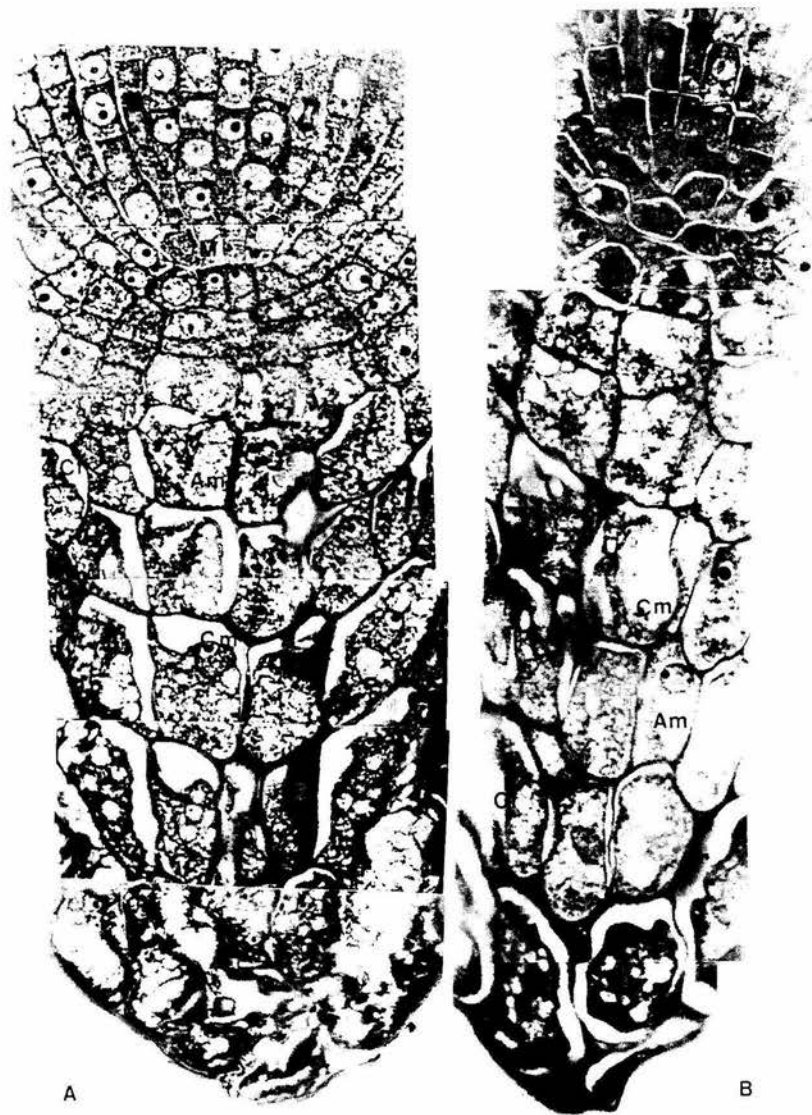


FIGURA 10. Fotomicrografía de un corte mediano del ápice radical de *A. hypochondriacus* a las 24 horas de desarrollo en agua (A) y AFA  $4 \times 10^{-5}M$  (B). Cf-cofia, Cm-columnela, Am-amiloplastos (estanolitos) y M-meristemo. 600X

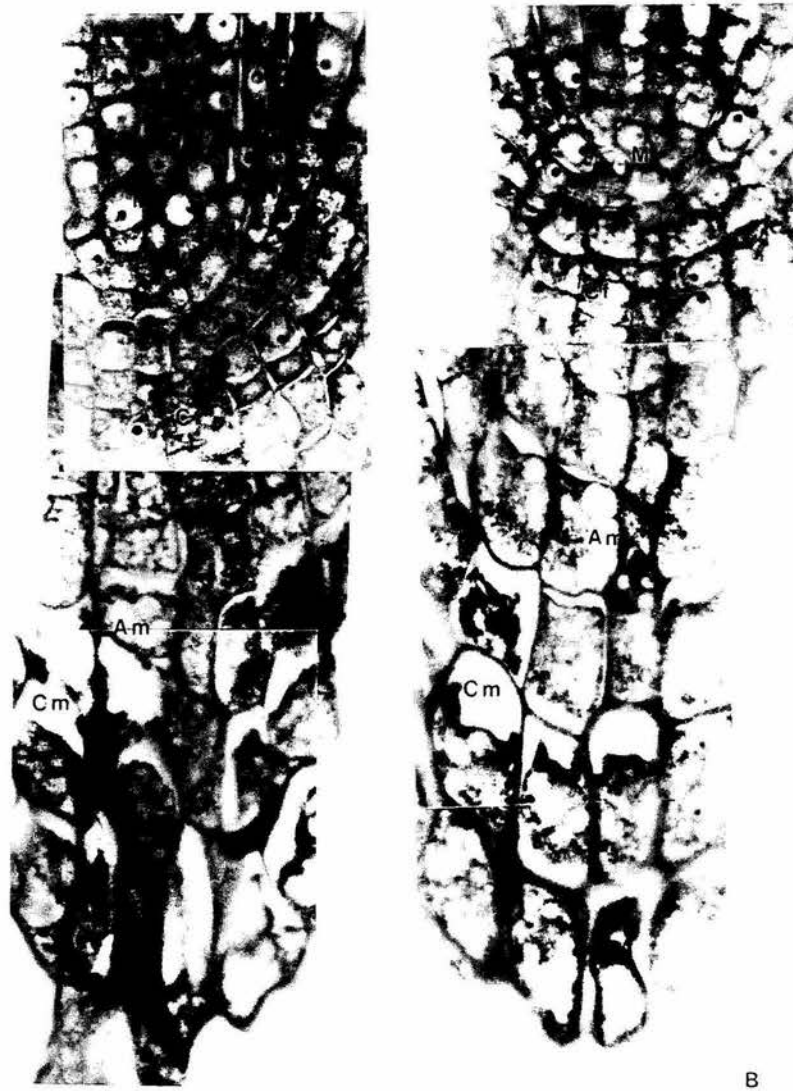


FIGURA 11. Fotomicrografías de cortes medianos de ápices radicales de *A. hypochondriacus* a las 48 horas de desarrollo en agua (A) y AFA  $4 \times 10^{-5}M$  (B). Cf-cofia, Cm-columnela, Am-amiloplastos (estanolitos), y M-meristemo. 550X

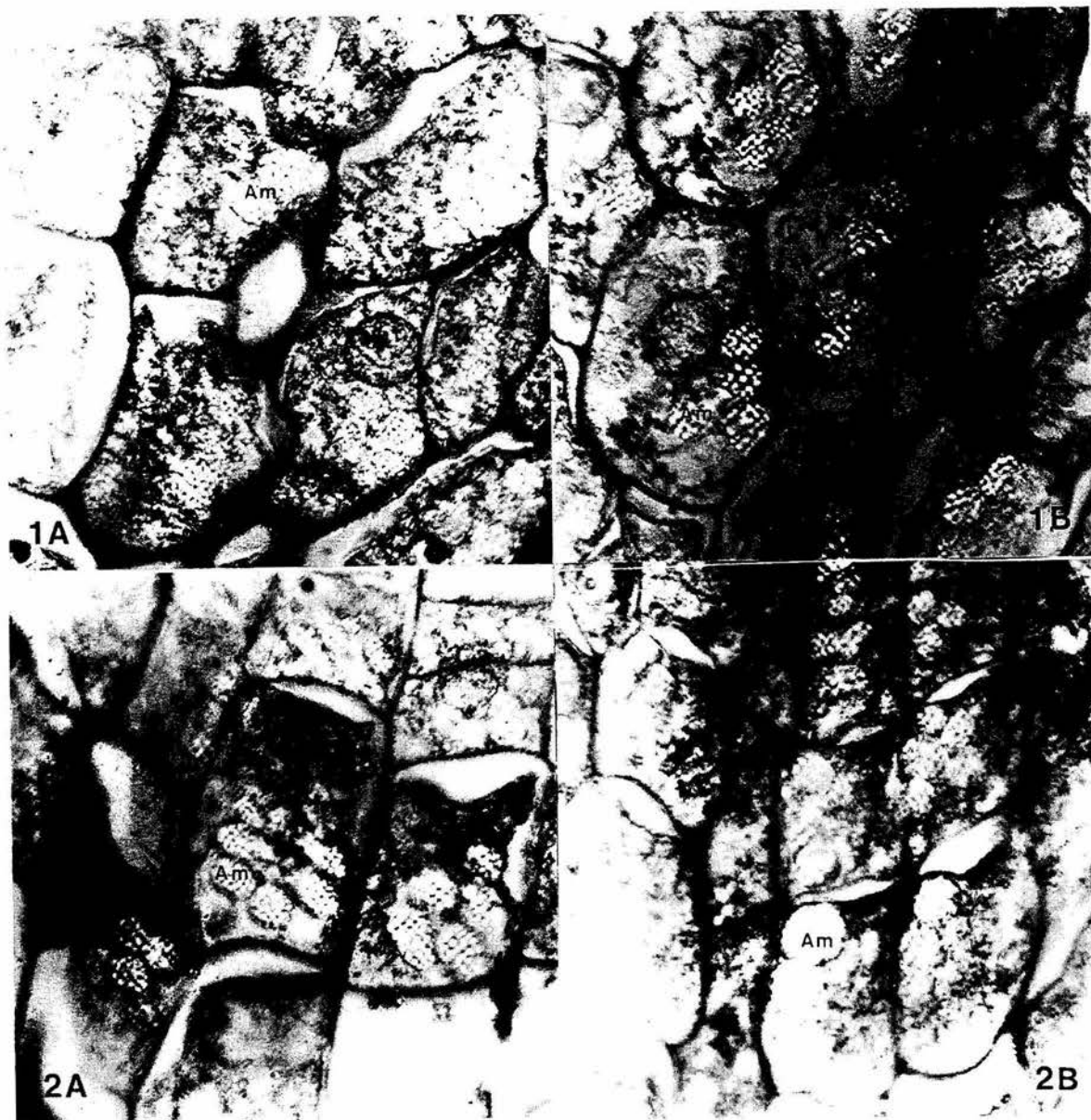


FIGURA 12. Fotomicrografías con luz polarizada de células centrales de la columnela, mostrando la abundancia y distribución de los amiloplastos (Am) en ápices radicales de plántulas de *A. hypochondriacus* con 24 (1) y 48 horas (2) de desarrollo en agua (A) y AFA  $4 \times 10^{-5}M$  (B). 1400X

la escasez del material observado, sin embargo, en caso de confirmarse, significaría que el AFA tiene un efecto directo sobre la percepción de la gravedad, al inducir la reducción en el número de estatolitos, lo que puede ser la causa de la respuesta gravitrópica atenuada que mostraron las raíces del lote experimental y que concuerda parcialmente con los resultados de Sievers y Volkmann (1977) en raíces de *Lepidium* tratadas con ácido abscísico.

Los cambios observados en la raíces como resultado del tratamiento con AFA al  $CI_{50}$  (calculado en este trabajo), pueden corresponder a los cambios que concentraciones similares de otras auxinas provocan, y que a primera vista parecen no relacionarse con las alteraciones tan drásticas inducidas por estos compuestos sobre la anatomía radical a dosis elevadas (al 1% en lanolina o agua). Una de estas alteraciones corresponde a la inhibición de la división y la elongación celular en el ápice radical; este hecho puede inducir la proliferación celular en el periciclo y puede provocar la formación de un elevado número de primordios de raíces laterales que incluso pueden fusionarse dando origen a un anillo grueso de tejido indiferenciado (Beal, 1944; Bond, 1948; Wilder, 1951; Leopold, 1955; Cartwright, 1976; Goodwin, 1972) o bien pueden propiciar la desintegración de los tejidos de la raíz, provocando la muerte de la planta (Coble y Slife, 1971).

## CONCLUSIONES.

1. En el presente trabajo se confirmó que el efecto inhibitorio del AFA sobre la germinación y el crecimiento radical es dependiente de la concentración, como sucede con otros compuestos auxínicos.
2. La inhibición del crecimiento radical que provoca el AFA a una concentración de  $4 \times 10^{-5}M$  ( $CI_{50}$  calculado en el presente trabajo), es resultado de un retraso de 18 horas en el crecimiento radical.
3. El AFA detiene la síntesis de ADN durante las primeras 16 horas del desarrollo de la plántula, lo que puede estar involucrado directamente con el retraso en el crecimiento radical.
4. El meristemo en el ápice radicular de *Amaranthus hypochondriacus* L. muestra una organización cerrada, que se mantiene durante las primeras 48 horas del desarrollo radical.
5. El AFA a una concentración de  $4 \times 10^{-5}M$ , no afecta la organización del meristemo radical y en general no provoca modificaciones en los puntos de diferenciación y maduración de los tejidos radicales. Sin embargo, la cofia es sensible al AFA, aunque la evidencia con la que se cuenta hasta el momento no es concluyente.
6. Los resultados sugieren que la inhibición del crecimiento durante las primeras 48 horas no implica necesariamente un cambio drástico a nivel estructural, que al menos no se detecta por microscopía fotónica.

## COMENTARIOS FINALES.

Este trabajo constituye un primer paso en la elucidación del mecanismo de acción del ácido fenilacético (AFA) sobre el desarrollo del sistema radical tomando como modelo a la semilla de *Amaranthus hypochondriacus* L.

Los resultados obtenidos en esta investigación sugieren abordar el proceso a partir de nuevos enfoques:

1. Dado que se detectó un bloqueo en la síntesis de ADN durante la germinación, sería conveniente determinar si éste coincide con el aumento de la fase lag de la curva de crecimiento de las raíces experimentales.
2. También sería conveniente determinar algunos otros parámetros en relación a la proliferación celular.
3. En este trabajo la metodología utilizada para la parte estructural fue la microscopía fotónica. Para continuar se hace necesario utilizar la microscopía electrónica de transmisión para resolver distintos problemas como posibles transformaciones de la pared celular y lamina media, tipos de inclusiones celulares, cambio en la estructura de los estatolitos y la dinámica de la secreción del mucílago.
4. Otro aspecto que sería conveniente evaluar, es si el AFA interfiere con la movilización de reservas, ya que este proceso es necesario para el establecimiento de la plántula.

5. Por último otro parámetro que nos puede dar pautas sobre el mecanismo de acción involucrado, es la obtención de patrones protéicos que pueden presentar cambios a consecuencia de la aplicación de este compuesto e incluso nos permitiría comparar a este nivel la respuesta con la de otras auxinas.

6. Incluso sería interesante evaluar que pasa con algunas proteínas relacionadas con el ciclo celular.



APENDICE 1.

Análisis estadístico de los datos utilizados en las curvas de concentración-respuesta.

1. Acetona.

ANALISIS DE VARIANZA DEL CRECIMIENTO RADICAL (CR).

FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P>F
TRATAMIENTOS	10	106.962	10.696	5.28	0.001
ERROR	22	44.544	2.025		
TOTAL	32	151.506			

ANALISIS DE VARIANZA DEL PORCIENTO DE GERMINACION (G).

FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P>F
TRATAMIENTOS	10	8.712	0.871	0.66	0.750
ERROR	22	29.167	1.326		
TOTAL	32	37.879			

TABLA DE MEDIAS.

TRATAMIENTO	MEDIA CR (mm)	MEDIA G (%)
TESTIGO (AGUA)	29.159 A	100.9 A
10 <sup>-12</sup> M	28.446 A	99.167 A
10 <sup>-11</sup> M	29.327 A	98.333 A
10 <sup>-10</sup> M	29.971 A	100.0 A
10 <sup>-9</sup> M	27.957 A	99.167 A
10 <sup>-8</sup> M	28.742 A	99.167 A
10 <sup>-7</sup> M	28.245 A	100.0 A
10 <sup>-6</sup> M	29.475 A	100.0 A
10 <sup>-5</sup> M	30.487 A	99.167 A
10 <sup>-4</sup> M	28.521 A	99.167 A
10 <sup>-3</sup> M	23.299 B	99.167 A

Las letras distintas indican que hay diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.05).



2. Acido fenilacético (AFA).

ANALISIS DE VARIANZA DEL CRECIMIENTO RADICAL (CR).

FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P>F
TRATAMIENTOS	10	5370.256	537.026	202.66	0.000
ERROR	33	87.447	2.650		
TOTAL	43	5457.703			

ANALISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACION (G).

FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P>F
TRATAMIENTOS	10	32523.010	3252.301	754.82	0.000
ERROR	33	142.187	4.309		
TOTAL	43	32665.200			

TABLA DE MEDIAS.

TRATAMIENTO	MEDIA CR (mm)	MEDIA G (%)
TESTIGO (AGUA)	33.953 A	100.0 A
10 <sup>-12</sup> M	33.811 A	100.0 A
10 <sup>-11</sup> M	33.474 A	100.0 A
10 <sup>-10</sup> M	33.374 A	100.0 A
10 <sup>-9</sup> M	32.957 A	99.375 A
10 <sup>-8</sup> M	32.872 A	99.375 A
10 <sup>-7</sup> M	32.852 A	99.375 A
10 <sup>-6</sup> M	32.432 A	99.375 A
10 <sup>-5</sup> M	30.411 A	99.375 A
10 <sup>-4</sup> M	9.110 B	98.750 A
10 <sup>-3</sup> M	0.417 C	5.000 B

Las letras distintas indican que hay diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.05).

3. P-hidroxi-fenilacético (PHFA).

ANALISIS DE VARIANZA DEL CRECIMIENTO RADICAL (CR).

FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P>F
TRATAMIENTOS	10	2531.066	253.107	104.898	0.000
ERROR	33	79.625	2.413		
TOTAL	43	2610.691			

ANALISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACION (G).

FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P>F
TRATAMIENTOS	10	13.92	1.392	0.64	0.770
ERROR	33	71.875	2.178		
TOTAL	43	85.795			

TABLA DE MEDIAS

TRATAMIENTO	MEDIA CR (mm)	MEDIA G (mm)
TESTIGO (AGUA)	34.431 A	99.375 A
10 <sup>-12</sup> M	32.776 A	100.0 A
10 <sup>-11</sup> M	32.769 A	99.375 A
10 <sup>-10</sup> M	32.723 A	100.0 A
10 <sup>-9</sup> M	32.649 A	100.0 A
10 <sup>-8</sup> M	32.547 A	98.75 A
10 <sup>-7</sup> M	32.359 A	99.375 A
10 <sup>-6</sup> M	32.259 A	100.0 A
10 <sup>-5</sup> M	32.129 A	99.375 A
10 <sup>-4</sup> M	31.512 A	99.375 A
10 <sup>-3</sup> M	6.337 B	98.125 A

Las letras distintas indican que hay diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.05).

4. Acido indolacético (AIA).

ANALISIS DE VARIANZA DEL CRECIMIENTO RADICAL (CR).

FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P>F
TRATAMIENTOS	10	13224.67	1322.467	175.74	0.000
ERROR	121	910.555	7.525		
TOTAL	131	14135.22			

ANALISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACION (G).

FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P>F
TRATAMIENTOS	10	32064.37	3206.437	35.22	0.000
ERROR	143	13018.3	91.037		
TOTAL	153	45082.67			

TABLA DE MEDIAS.

TRATAMIENTO	MEDIA CR (mm)	MEDIA G (%)
TESTIGO (AGUA)	28.211 A	98.393 A
10 <sup>-12</sup> M	28.177 A	99.286 A
10 <sup>-11</sup> M	27.695 A	98.75 A
10 <sup>-10</sup> M	27.619 A	98.75 A
10 <sup>-9</sup> M	27.054 A	97.143 A
10 <sup>-8</sup> M	26.529 A	98.571 A
10 <sup>-7</sup> M	21.175 B	99.286 A
10 <sup>-6</sup> M	13.592 C	98.214 A
10 <sup>-5</sup> M	9.371 D	97.678 A
10 <sup>-4</sup> M	4.365 E	99.286 A
10 <sup>-3</sup> M	1.008 F	48.393 B

Las letras distintas indican que hay diferencias significativas entre los tratamientos (P<0.05).

5. Acido 2,4-dicloro-fenoxiacético (2,4-D).

ANALISIS DE VARIANZA DEL CRECIMIENTO RADICAL (CR).

FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P>F
TRATAMIENTOS	10	8839.623	883.962	592.375	0.000
ERROR	43	64.166	1.492		
TOTAL	53	8903.789			

ANALISIS DE VARIANZA DEL PORCENTAJE DE GERMINACION (G).

FUENTES DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P>F
TRATAMIENTOS	10	44205.23	4420.523	422.83	0.000
ERROR	44	460.0	10.454		
TOTAL	54	44665.23			

TABLA DE MEDIAS.

TRATAMIENTO	MEDIA CR (mm)	MEDIA G (%)
TESTIGO (AGUA)	30.787 A	99.5 A
10 <sup>-12</sup> M	29.699 AB	99.5 A
10 <sup>-11</sup> M	29.516 AB	99.0 A
10 <sup>-10</sup> M	29.467 AB	100.0 A
10 <sup>-9</sup> M	28.695 AB	99.0 A
10 <sup>-8</sup> M	27.682 B	100.0 A
10 <sup>-7</sup> M	17.537 C	98.5 A
10 <sup>-6</sup> M	4.124 D	98.5 A
10 <sup>-5</sup> M	2.402 DE	97.5 A
10 <sup>-4</sup> M	2.628 DE	91.5 B
10 <sup>-3</sup> M	0.000 E	0.0 C

Las letras distintas indican que hay diferencias significativas entre los tratamientos.

APENDICE 2.



1. Solución de imbibición.

a) Testigo

1730 $\mu$ l de H<sub>2</sub>O

70  $\mu$ l de <sup>3</sup>H-timidina (50  $\mu$ Ci/ml)

b) Tratamiento

1730 $\mu$ l de AFA ( $2 \times 10^{-3}$ M)<sup>2</sup>

70  $\mu$ l de <sup>3</sup>H-timidina (50  $\mu$ Ci/ml)

2. Solución de lisis.

NaCl 0.3M

EDTA 0.1M

Tris-HCl 0.01 $\mu$ M pH=7.5

Timidina 0.04 mM/ml

3. Líquido de centelleo.

1,4-bis [2-(5-fenillaxozolil)] benceno (POPOP) 0.1g

2,5 difreniloxazol (POP) 0.5g

Tolueno 1000 ml

---

<sup>2</sup> Se utilizó esta concentración para mantener la proporción de  $6 \times 10^9$  moles de AFA por semilla, utilizada en otros bioensayos (Weidenhamer y cols., 1987).

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Abe, H., Uchiyama, M., y Sato, R. 1974. Isolation of phenylacetic acid and its p-hydroxy derivative as auxin-like substances from *Undaria pinnatifida*. *Agric. Biol. Chem.* 38: 897-898.

Aberg, B. 1963. Studies on Plant Growth Regulators. XIX. Phenylacetic Acid and Related Substances. *Lantbruk. Ann.* 29: 3-43.

Anaya, A.L., Ramos, L., Hernández, J., y Cruz-Ortega, R. 1987. Allelopathy in Mexico. En: *Allelochemicals: role in agriculture and forestry*. R. Waller (ed.). ACS Symposium Series 330. Washington D.C. p. 89-101.

Anaya, A.L., Hernández-Bautista, B.E., Jiménez-Estrada, M. y Velasco-Ibarra, L. 1992. Phenylacetic acid as a phytotoxic compound of corn pollen. *Jour. Chem. Ecol.* 18(6): 897-905.

Ashton, F. M., Penner, D. y Hoffman, S. 1968. Citado por Cartwright, P. M. 1976. General growth responses of plants. En: *Herbicides (Physiology, Biochemistry, Ecology)*. Volumen 1. Ed. L.J. Audus. Academic Press. London. p. 55-81.

Audus, L.J. 1965. *Plant Growth Substances*. Academic Press. 2° Ed. London. pp. 553.

Audus, L.J. 1976. *Herbicides*. Volumen 1. Academic Press. 2° Ed. London. p. 7, 85, 86, 366 y 531.

Armstrong, J. E. y Heimsch, C. 1976. Ontogenetic reorganization of the root meristem in the Compositae. *Am. J. Bot.* 63(2): 212-219.

Balke, N.E. 1985. Effects of allelochemicals on mineral uptake

and associated physiological processes. En: The chemistry of allelopathy. A.C. Thompson (ed.). American Chemical Society. Washington, D.C. p. 161-178.

Bandurski, R. S. y Nonhebel, H.M. 1990. Auxins. En: Advanced Plant Physiology. M. B. Wilkins (ed.). Longman Scientific & Technical. Singapore. p. 5.

Barlow, P.W. 1976. Towards an understanding of the behavior of root meristems. *J. Theor. Biol.* 57: 433-451.

Beal, J.M. 1944. Some teleomorphic effects induced in sweet pea by application of 4-chlorophenoxyacetic acid. *Bot. Gaz.* 105(4): 471-474.

Bitsch, A., Triebes, R., y Schultz, G. 1984. Compartmentation of phenylacetic cinnamic acid synthesis in spinach. *Physiol. Plant.* 61: 617-621.

Bond, L. 1948. Responses of pea roots to application of certain growth-regulating substances. *Bot. Gaz.* 109: 435-447.

Brock, T. G. y Kaufman, P. B. 1991. Growth Regulators: An account of hormones and growth regulation. En: Plant Physiology A Treatise. F.C. Steward (ed.). Volumen X: Growth and Development. R.G.S. Bidwell (ed.). Academic Press. San Diego. p. 288-299.

Burgess, J. 1989. An introduction of plant cell development. Cambridge University Press. Cambridge. p. 108-112.

Cartwright, P. M. 1976. General growth responses of plants. En: Herbicides (Physiology, Biochemistry, Ecology). Volumen 1. L.J. Audus (ed.). Academic Press. London. p. 55-81.

Cholodny, N. 1928. Citado por Goodwin, P. B. 1978.

Phytohormones and growth and development of organs of the vegetative plant. En: Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise. Volumen II: Phytohormones and The development of Higher Plants. D.S. Letham, P.B. Goodwin y T.J.V. Higgins (eds.). Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Amsterdam. p. 31-42.

Chou, CH. H. y Patrick, Z. A. 1976. Identification and phytotoxic activity of compounds produced during decomposition of corn and rye residues in soil. **J. Chem. Ecol.** 2: 369-387.

Chuman, T. y Noguchi, M. 1977. Acidic aroma constituents of Turkish tobacco. **Agric. Biol. Chem.** 41: 1021-1030.

Coble, H.D. y Slife, F.W. 1971. Citado en Pillmoor, J.B. y Gaunt, J.K. 1981. The behavior and mode of action of the phenoxyacetic acids in plants. En: Progress in Pesticide Biochemistry, Vol. 4. D.H. Hutson and T.R. Roberts (eds.). John Wiley & Sons, Ltd. p. 147-218.

Cruz García, F. 1993. El metabolismo del ADN y el vigor de semillas de maíz. Teis de Maestría. Colegio de Postgraduados. p.24-25, 80-81.

Cruz Ortega, R., A.L. Anaya, L. Ramos, y E. Chávez. 1988. Effects of allelopathic compounds of corn pollen on respiration and cellular division of watermelon. **J. Chem. Ecol.** 14(1): 71-86.

Dolan, L., Janmaat, K., Willemsen, V., Linstead, P., Poethig, S., Roberts, K. y Scheres, B. 1993. Cellular organization of the *Arabidopsis thaliana* root. **Development** 119: 71-84.

Dubouchet, J. y Zouzou, M. 1992. Effect of phenylacetic acid on growth of sunflower hypocotyl or wheat coleoptile segments comparison with indol-3yl-acetic acid. **C. R. Acad. Sci. Ser. III**



Sci. Vie 315(2): 63-68.

Einhellig, F.A. 1986. Mechanisms and modes of action of allelochemicals. En: The science of allelopathy. A.L. Putnam and C-H. Tang (eds.). John Wiley & sons, Inc. U.S.A. pp.171-188.

Einhellig, F.A. 1995. Allelopathy: Current status and future goals. En: Allelopathy. Organisms, Processes, and Applications. Inderjit, K. M. M. Dakshini and F. A. Einhellig (eds.). American Chemical Society. Washington, D.C. pp.1-24.

Esau, K. 1977. Anatomy of seed plants. 2° Ed. John Wiley & Sons. U.S.A. p. 609-612.

Evans, M. L., Moore, R. y Hasenstein K-H. 1986. How roots respond to gravity. Sci. Amer. 255: 111-119.

Fahn, A. 1989. Plant Anatomy. 3° Ed. Pergamon Press, Singapore. p. 2-4.

Fries, L. 1977. Growth regulating effects of phenyl acetic acid on *Fucus spiralis* Phaeophyceae Fucales in axenic culture. Phycologia 16(4): 451-456.

Fries, L. y Aberg, S. 1978. Morphogenetic effects of phenyl acetic-acid and p-hydroxyphenyl acetic acid on the green alga *Enteromorpha compressa* in axenic culture. Z. Pflanzenphysiol 88(5): 383-388.

Font-Quer, P. 1973. Diccionario de Botánica. Editorial Labor. Barcelona. 1236p.

Goodwin, P. B. 1978. Phytohormones and growth and development of organs of the vegetative plant. En: Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise. Volumen II: Phytohormones and

The development of Higher Plants. D.S. Letham, P.B. Goodwin y T.J.V. Higgins (eds.). Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Amsterdam. p. 31-42.

Goodwin, R.H. 1972. Studies on roots. V. Effects of indoleacetic acid on the standard root growth pattern of *Phleum pratense*. **Bot. Gaz.** 133(3): 224-229.

Gross, G. G. 1981. Phenolic Acids. En: Biochemistry of Plants. Volumen 7. Secondary Plant Products. E.E. Conn (ed.). Academic Press N. Y. p. 314.

Gustafson, F.G. 1936. Citado por Goodwin, P. B. 1978. Phytohormones and growth and development of organs of the vegetative plant. En: Phytohormones and Related Compounds: A Comprehensive Treatise. Volumen II: Phytohormones and The development of Higher Plants. D.S. Letham, P.B. Goodwin y T.J.V. Higgins (eds.). Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Amsterdam. p. 31-42.

Haagen-Smit, A.J. y Went, F.W. 1935. Citado por Aberg, B. 1963. Studies on Plant Growth Regulators. XIX. Phenylacetic Acid and Related Substances. **Lantbruk. Ann.** 29: 3-43.

Hawes, M. C. y Lin, H-J. 1990. Correlation of pectolytic enzyme activity with the programs release of cells from root caps of pea (*Pisum sativum*). **Plant Physiol.** 94: 1855-1859.

Hirt, H., Pay, A., Györgyey, J., Bako, L., Németh, K., Bögre, L., Schweyen, R. J., Herberle-Bors, E., y Dudits, D. 1991. Complementation of a yeast cell cycle mutant by an alfalfa cDNA encoding a protein kinase homologous to p34<sup>cdc2</sup>. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 88: 1636-1640.

Ishikawa, H. y Evans, M. L. 1993. The role of the distal

elongation zone in the response of maize roots to auxin and gravity. **Plant Physiol.** 102: 1203-1210.

Irving, D., Betschart, A.A. y Saunders, R.M. 1981. Morphological studies on *Amaranthus cruentus*. **J. Food Sci.** 46: 1170-1174.

Jiménez-Osornio, J.J. y Schultz, K. 1981. Relaciones cultivo-arvenses en una "chinampa". Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, México, UNAM.

Jiménez, J.J., Schultz, K., Anaya, A.L., Hernández, R.J. y Espejo, O. 1983. Allelopathic potential of Corn Pollen. **J. Chem. Ecol.** 9(8): 1011-1025.

Johnson, C. F. y Morris, D. A. 1987. Regulation of auxin transport in pea (*Pisum sativum* L.) by phenylacetic acid: effects on the components of transmembrane transport of indol-3yl-acetic acid. **Planta** 172: 400-407.

Kimland, B., Aasen, A.J., Almqvist, S.O., Arpino, P., y Enzell, C.R. 1973. Volatile acids of sun-cured Greek *Nicotiana tabacum*. **Phytochem.** 12: 8835-847.

Lane, B. G. 1991. Cellular desiccation and hydration: developmentally regulated proteins, and the maturation and germination of seed embryos. **FASEB** 5: 2893-2901.

Leather, G. R. y Einhellig, F. A. 1988. Bioassay of naturally occurring allelochemicals for phytotoxicity. **J. Chem. Ecol.** 14(10): 1821-1828.

Leopold, A. C. 1955. Auxins and Plant Growth. University of California Press. USA. p. 124-127.

Leuba, V., Letourneau, D. y Roberts, L. 1988. Effects of phenylacetic acid PAA on tracheary element induction in cultured lettuce pith explants. **Plant Physiol. (Bethesda)** 86(Supl.4): 112.

Leuba, V., Letourneau, D. y Oliver, D. 1989. Stability of phenylacetic acid in liquid media. **J. Plant Growth Regul.** 8(2): 163-165.

Leuba, V. y Letourneau, D. 1990. Auxin activity of phenylacetic acid in tissue culture. **J. Plant Growth Regul.** 9(2): 71-76.

Libbert, E. 1957. Die regulation des wurzelwachstums durch synthetische und endogene inhibatoren. **Planta (Bd.)** 50: 25-40.

Linch, J. M., Hall, K. C., Anderson, H. A. y Herburn, A. 1980. Organic acids from the anaerobic decomposition of *Agropyron repens* rhizomes. **Phytochem.** 19: 1846-1847.

Linck, A. J. 1976. Effects on the cytology and fine structure of plant cells. En: *Herbicidas (Physiology, Biochemistry, Ecology)*. Volumen 1. L.J. Audus (ed.). Academic Press. London. p. 83-125.

Lorber, P. y Muller, W. H. 1976. Volatile growth inhibitors produced by *Salvia leucophylla*: effects on seedling root tip ultrastructure. **Am. J. Bot.** 63: 196-200.

Lovett, J. V., Ryuntyu, M. Y. y Liu, D. L. 1989. Allelopathy, chemical communication, and plant defense. **J. Chem. Ecol.** 15(4): 1193-1202.

Lovett, J. y Ryuntyu, M. 1992. Allelopathy: broadening the context. En: "Allelopathy: basic and applied aspects". S.J.H. Rizvi y V. Rizvi (eds.). Chapman & Hall, London. p. 11-19.

Machackova, I., Chvojka, L., Nasinec, V. y Zmrhal, Z. 1981. The effect of phenyl acetic-acid on ethylene formation in wheat *Triticum aestivum* cultivar Jubitar seedling. **Biol. Plant.** (Prague) 23(2): 116-119.

Martínez, M. C., Jorgensen, J-E., Lawton, M.A. y Lamb, C.J. 1992. Spatial pattern of *cdc2* expression in relation to meristem activity and cell proliferation during plant development. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 89: 7360-7364.

Mathews, C.K. y Van Holde, K. E. 1990. Biochemistry. The Benjamin/Cummings Publishing Co. Redwood City, CA. 722-723.

Milborrow, B.V., Purse, J.G. y Wightman, F. 1975. On the auxin activity of phenylacetic acid. **Ann. Bot.** 39(164): 1143-1146.

Moreno, E. 1984. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Instituto de Biología UNAM. México, D.F. p. 169-178.

Morris, D. A. y Johnson, C.F. 1987. Regulation of auxin transport in pea (*Pisum sativum* L.) by phenylacetic acid: inhibition of polar auxin transport in intact plants and stem segments. **Planta** 172: 408-416.

Morris, D.A. y Small, D.K. 1990. Auxin transport and regulation of petiole abscission in cotton *Gossypium hirsutum* L. **Plant Growth Regul.** 9(3): 201-214.

Muller, W.H. 1965. Volatile materials produced by *Salvia leucophylla* effect on seedling growth and soil bacteria. **Bot. Gaz.** 126: 195-200.

Muller, W.H. y Hauge, R. 1967. Volatile growth inhibitors produced by *Salvia leucophylla*: effect on seedling anatomy. **Bull. Torrey Bot. Club** 94: 182-191.

Nair, M. G. y Burke, B. A. 1988. A new fatty acid methyl ester and other biologically active compounds from *Aspergillus niger*. **Phytochem.** 27: 3169-3173.

Obroucheva, N. V. 1981. Development of the mature root growth pattern in the course of seed germination. En: Structure and Function of Plant Roots. R. Brouwer y cols (eds.). Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. Boston. p. 23-27.

Ochs, G. 1954. Zur Wirkungsweise des wuchsstoffes auf das streckenwachstum der wurzel. **Planta** 44: 412-436.

Pal, A., Singh, R.P. y Pal, M. 1990. Development and structure of seed in *Amaranthus hypochondriacus* L. and its wild progenitor *A. hybridus* L. **Phytomorphology** 40(1&2): 145-150.

Pavlica, M., Papes, D. y Nagy, B. 1991. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid causes chromatin and chromosome abnormalities in plant cells and mutation in cultured mammalian cells. **Mut. Res.** 263: 77-81.

Permadasa, M.A. 1982. Effects of phenyl acetic-acid on abaxial and adaxial stomatal movements and interaction with abscisic-acid. **New Phytol.** 92 (1): 21-30.

Peterson, E. B. 1965. Inhibition of black spruce primary roots by a water-soluble substance in *Kalmia angustifolia*. **For. Sci.** 11: 473-479.

Pines, J. 1994. Arresting developments in cell-cycle control. **TIBS** 19: 143-145.

Popham, R.A. 1955. Levels of tissue differentiation in primary roots of *Pisum sativum*. **Amer. J. Bot.** 42: 529-540.

Prochazka, S. y Borkovec, V. 1984. Transport and regulative properties of phenylacetic-acid. *Biol. Plant.* (Prague) 26(5): 358-363.

Prochazka, S., Cernoch, V., Blazkova, J. y Dundelova, M. 1983. Morpho regulative effects of phenyl acetic-acid in pea seedlings *Pisum sativum*. *Biochem. Physiol. Pflanz.* (BPP) 178(6-7): 493-501.

Ram, Z., Samid, D., Walbridge, S., Oshiro, E. M., Viola, J. J., Tao-Cheng, J. H., Shack, S., Thibault, A., Myers, C. E. y Oldfield, E. H. 1994. Growth inhibition, tumor maturation, and extended survival in experimental brain tumors in rats treated with phenylacetate. *Cancer Res.* 54(11): 2923-2927.

Rasmussen, L.E.L., Hess, D. L. y Haight, J. D. 1990. Chemical analysis of temporal gland secretions collected from an Asian bull elephant during a fourth-month musth episode. *J. Chem Ecol.* 16: 2167-2181.

Ray, 1973. Citado por Audus, L.J. 1976. *Herbicides*. Volumen 1. Academic Press. 2° Ed. London. p. 531.

Retig, B., Holm, L. G. y Struckmeyer, B. E. 1972. Effects of weeds on the anatomy of roots of cabbage and tomato. *Weed Sci.* 20:33-49.

Rice, E.L. 1984. *Allelopathy*. 2° Ed. Academic Press, N.Y. 422p.

Rizvi, J.H., Haque, H., Singh, V. K. y Rizvi, V. 1992. A discipline called allelopathy. En: "Allelopathy: basic and applied aspects". S.J.H. Rizvi y V. Rizvi (eds.). Chapman & Hall, London. p. 1-10.

Roland, J.C. y Roland, F. 1980. *Atlas of flowering plant*

structure. Longman. UK. p. 1-21.

Rost, T.L. y Baum, S. 1988. On correlation of primary root length, meristem size and protoxylem tracheary element position in pea seedlings. **Amer. J. Bot.** 75(3): 414-424.

Schiefelbein, J. W. y Benfey, P. N. 1991. The development of plant roots: new approaches to underground problems. **The Plant Cell** 3: 1147-1154.

Schildknecht, H., y Koob, K. 1971. Myrmicacin, the first insect herbicide. **Angew. Chem. Internat. Edit.** 10: 124-125.

Schneider, E.A. y Wightman, F. 1986. Auxins of non-flowering plants I. Occurrence of IAA and Phenylacetic-acid in vegetative and fertile fronds of the ostrich fern *Matteucia struthiopteris*. **Physiol. Plant.** 68(3): 396-402.

Sievers, A. y Volkmann, D. 1977. Ultrastructural aspects of georeceptors in roots. En: *Plant Growth Regulation*. P.E. Pilet (ed.). Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. p. 209-217.

Sievers, A. y Hensel, W. 1991. Root cap. Structure and function. En: *Plant Roots. The Hidden Half*. Y., Waisel, A., Eskel y U., Kalkafi (eds.). Dekker. N.Y. p. 53-74.

Slimmon, T., Qureshi, J.A. y Saxena, P.K. 1991. Phenylacetic acid-induced somatic embryogenesis in cultured hypocotyl explants of geranium (*Pelargonium x hortorum* Bailey). **Plant Cell Rep.** 10(11): 587-589.

Small, D.K. y Morris, D.A. 1990. Promotion of elongation and acid invertase activity in *Phaseolus vulgaris* L. internode segments by phenylacetic acid. **Plant Growth Regul.** 9(4): 329-340.



Sporne, K.R. 1974. The morphology of angiosperms. Hutchinson & Co. London. p. 57-63.

Steeves, T. A. y Sussex, M. 1991. Patterns in plant development. 2° Ed. Cambridge University Press. U.S.A. p.229-254.

Street, H. E. y Opik, H. 1984. The physiology of flowering plants their growing and development. 3° Ed. Eds. Edward Arnold. London. p 157-161.

Suttle, J.C. y Mansager, E.R. 1986. The physiological significance of phenylacetic acid in abscising cotton cotyledons. **Plant Physiol.** (Bethesda) 81(2): 434-438.

The Merck Index. An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 1989. Susan Budavary (ed.). 11° Ed. Merck & CO., Inc. Rathway, N.J., U.S.A.

Van Andel, O. M., Van Der Zweep, W. y Gorter, C.J. 1976. Morphogenetic responses of plants. En: Herbicides (Physiology, Biochemistry, Ecology). Volumen 1. L.J. Audus (ed.). Academic Press. London. p. 127-163.

Vierstra, R.D. y Poff, K.L. 1981. Mechanism of specific inhibition of phototropism by phenylacetic acid in corn seedling. **Plant Physiol.** (Bethesda) 67(5): 1011-1015.

Volfova, A., Opatrni, Z., Khvoika, L. y Stoinova, E. 1982. Effect of nonindole auxin phenyl acetic-acid on the growth and ultrastructure of a tobacco cell stain. **Fiziol. Rast.** (Sofia) 8(1): 19-29. BIOSIS número: 75091024

Weidenhamer, J. D., Morton, T. C. and Romeo, J. T. 1987. Solution volume and seed number: Often overlooked factors in allelopathic bioassays. **J. Chem. Ecol.** 13(6): 1481-1491.

Wightman, F. y Lighty, D. L. 1982. Identification of phenylacetic acid as a natural auxin in the shoots of higher plants. **Physiol. Plant.** 55: 17.

Wilder, M. H. 1951. Anatomical modifications of bean roots following treatment with 2,4-D. **Am. J. Bot.** 38: 79-91.

Whiting, A.G. y Muray, M.A. 1946. Histological responses of bean plants to phenylacetic acid. **Bot. Gaz.** 107: 312-331.

Whittaker, R:H: y Feeny, P.P. 1971. Allelochemicals: chemical interactions between species. **Sci.** 171: 757-770.

Yasuhara, A. y Fuwa, K. 1983. Isolation and analysis of odorous components in swine manure. **J. Chromatog.** 281: 225-236.

Zaraín, M., Bernal-Lugo, I. y Vázquez-Ramos, J. M. 1987. Effect of benzyl adenine on the DNA synthesis during early germination of maize embryo axes. **Mut. Res.** 181: 103-110.

Ziauddin, A., Marsolais, A., Simion, E., y Kasha, J. K. 1992. Improved plant regeneration from wheat anther and barley microspore culture using phenylacetic acid PAA. **Plant Cell Rep.** 11 (10): 489-493.

Zimmerman, P.W. y Wicoxon, A. E. 1935. Citado por Aberg, B. 1963. Studies on Plant Growth Regulators. XIX. Phenylacetic Acid and Related Substances. **Lantbruk. Ann.** 29: 3-43.

PBH  
929M  
1996



383



**UNAM**

**FECHA DE DEVOLUCION**

El lector se obliga a devolver este libro antes  
del vencimiento de préstamo señalado por el  
último sello.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO