

23



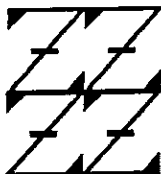
# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Estudios Superiores  
ZARAGOZA

SINTESIS DE LAS AUXINAS,  
ÁCIDO ALFA NAFTALENACÉTICO Y  
ÁCIDO BETA NAFTOXIACETICO  
A PARTIR DEL NAFTALENO Y  
BETA NAFTOL RESPECTIVAMENTE

**TESIS PROFESIONAL**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**Químico Farmacéutico, Biólogo**  
P R E S E N T A :  
**VICTOR ROJAS ADAYA**

U N A M  
F E S  
ZARAGOZA



LO HUMANO

MEXICO, D.F.

ENERO 2000



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## AGRADECIMIENTOS

M. en C. Alejandrina Ávila Ortíz

Q. Jorge Rivas Montes

F. Carlos Valencia Toledano

M. en C. Lourdes Castillo Granada

Por brindar su ayuda incondicional al proporcionar material bibliográfico y por sus sugerencias a este trabajo.

Además a todas aquellas personas que colaboraron con su apoyo para ser posible esta tesis.

ING. Q. M. Cornelio Hernández Pulido

Por su extraordinario apoyo y constante motivación

Q. SAMUEL SOSOL MENDEZ

Por brindarme su valioso tiempo y amistad, contribuyendo a culminar la última etapa de mi profesión

A VICKY Y PAO

Por su amor y paciencia contribuyendo a realizarme como persona y profesionalmente.

A MIS PADRES:

AURORA, EVARISTO, ESTHER Y MARIO

Por habernos heredado a mi esposa y a mi su espíritu indomable

A MIS HERMANOS.

CLEOTILDE, URBANO, EUGENIO Y MARCOS

Por su apoyo y motivación constante en mis épocas de estudiante.

# ÍNDICE

	PÁG.
INTRODUCCIÓN.....	1
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
OBJETIVOS.....	16
HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	16
MATERIAL, EQUIPO E INSTRUMENTOS.....	17
SÍNTESIS DEL ÁCIDO $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO.....	17
SÍNTESIS DEL ÁCIDO $\beta$ -NAFTOXIACÉTICO.....	18
SÍNTESIS DEL ÉSTER ETÍLICO DEL ÁCIDO $\beta$ -NAFTOXIACÉTICO.....	20
SÍNTESIS DEL ÉSTER METÍLICO DEL ÁCIDO $\beta$ -NAFTOXIACÉTICO.....	22
SÍNTESIS DEL ÉSTER ETÍLICO DEL ÁCIDO $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO.....	24
SÍNTESIS DEL ÉSTER METÍLICO DEL ÁCIDO $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO.....	26
RESULTADOS.....	28
FIG. 1 Y 2 INFRARROJO DEL ÁCIDO $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO.....	30
FIG. 3 Y 4 INFRARROJO DEL ÁCIDO $\beta$ -NAFTOXIACÉTICO.....	31
FIG. 5 Y 6 RMN DEL ÁCIDO $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO.....	32
FIG. 7 Y 8 RMN DEL ÁCIDO $\beta$ -NAFTOXIACÉTICO.....	33
FIG. 9 Y 10 RMN DEL $\beta$ -NAFTOXIACETATO DE METILO.....	34
FIG. 11 Y 12 RMN DEL $\alpha$ -NAFTALENACETATO DE ETILO.....	35
FIG. 13 Y 14 RMN DEL $\alpha$ -NAFTALENACETATO DE METILO.....	36
ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	37
CONCLUSIONES.....	39
SUGERENCIAS.....	39
FOTOGRAFÍAS.....	40
GLOSARIO.....	42
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	44
BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.....	46

## INTRODUCCIÓN.

El presente trabajo se realizó con la finalidad de poder ayudar a la comunidad de, Ozumba Edo. de Méx., la mayoría de sus habitantes tienen como actividad principal el trabajo laboral de la tierra; sin embargo, como en otras muchas comunidades, la deficiencia en sus cosechas se incrementa cada año en lo que respecta a cantidad y calidad, de ahí que surja la particular intención de contribuir al mejoramiento de las condiciones de vida de esta localidad donde radico y posteriormente evaluar la conveniencia de difundirlo a nivel Estado.

Las hormonas reguladoras del crecimiento en plantas, se dividen en NATURALES Y SINTÉTICAS. Ambas pueden clasificarse en: AUXINAS; GIBERELINAS; CITOCININAS; ÁCIDO ABSCÍSICO Y ETILENO. Las Auxinas sintéticas, presentan estructuras químicas que involucran diferentes grupos funcionales, por conveniencia pueden reunirse en 5 grupos: Ácidos Indólicos; Ácidos Naftalénicos; Ácidos Picolínicos Ácidos Arilcarboxílicos y Clorofenoxiácidos (fig.1A). Los Ácidos Piridincarboxílicos generalmente se emplean como herbicidas selectivos en la agricultura (24).

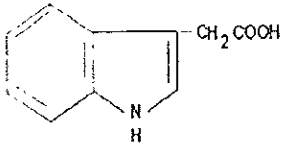
El presente trabajo está enfocado a la síntesis de derivados del Ácido Naftalénico, la materia prima (el Naftaleno y el  $\beta$ -Naftol) es accesible en México a precio razonable.

La síntesis que se realizó en el laboratorio fue para obtener Ácido Naftalenacético y Ácido Naftoxiacético a partir de Naftaleno y  $\beta$ -Naftol respectivamente; de ambos ácidos, se obtuvieron sus ésteres etílico y metílico. Posteriormente, se realizaron en todos los compuestos sintetizados pruebas físicas de caracterización, tales como: punto de fusión y pruebas de solubilidad. El curso de la síntesis de estas auxinas, se siguió empleando cromatografía en capa fina con la finalidad de comparar con muestra estándar; al final de la reacción, el  $R_f$  de ambos productos fue igual.

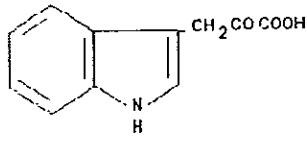
Por último, se realizó en todos los productos la comprobación de la estructura por Espectroscopia en el Infrarrojo con transformadas de Fourier y de Resonancia Magnética Nuclear.

FIG. 1A

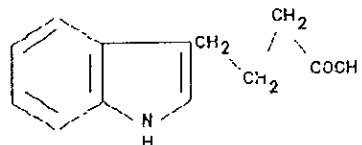
COMPUESTOS INDÓLICOS



ACIDO  
L-INDOLACETICO  
(AIA)

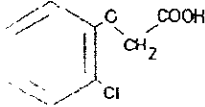


ACIDO INDOL PIRUVICO  
(IPA)

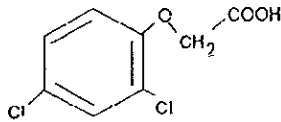


ACIDO INDOL BUTIRICO  
(AIB)

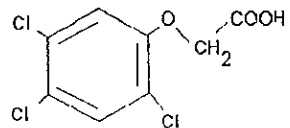
LENOXIACIDO



ACIDO CLOROFENOXIACETICO

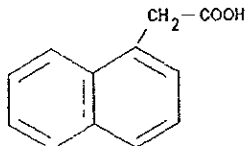


ACIDO 2,4  
DICLOROFENOXIACETICO

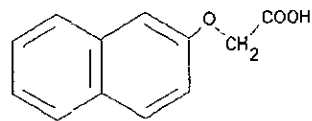


ACIDO 2,4,5  
TRICLORUROFENOXIACETICO

ACIDOS  
NAFTALINICOS

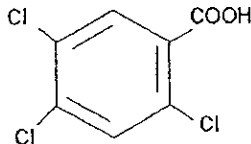


ACIDO NAFTALEN ACETICO

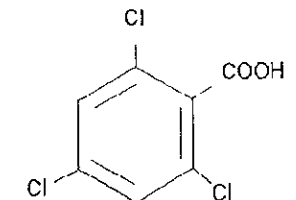


ACIDO -B-  
NAFTOXIACETICO

ACIDOS BENZOICOS



ACIDO 2,3,5 TRICLOROBENZOICO



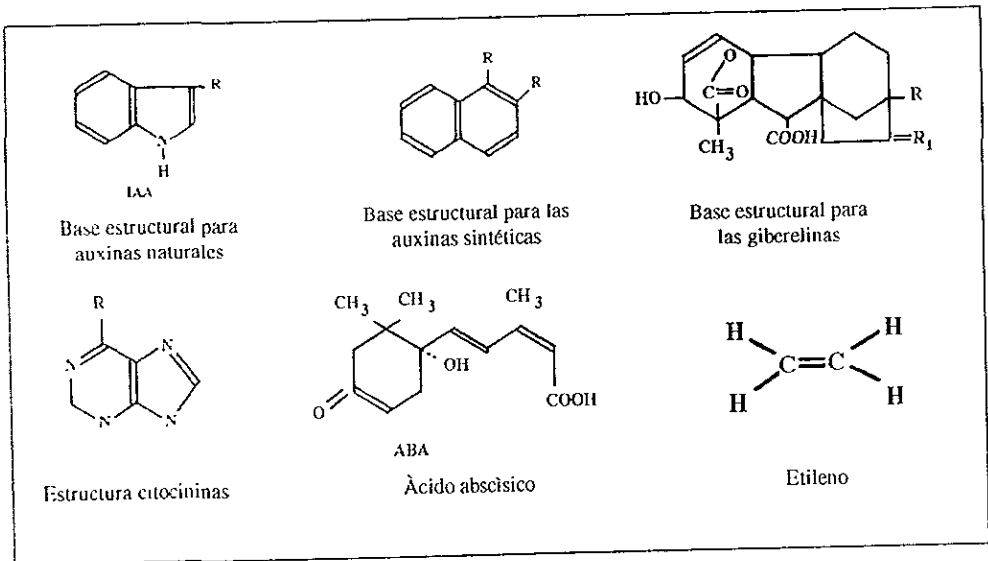
ACIDO 2,4,6 TRICLOROBENZOICO



El control del crecimiento vegetal está regulado por las hormonas vegetales llamadas fitorreguladores, los cuales pueden definirse como aquellas sustancias orgánicas que son activas en concentraciones mínimas ( del orden de  $1 \times 10^{-6}$   $\mu\text{g}$  o menos ), que se sintetizan en una parte de la planta, y que generalmente se trasladan a otro sitio, en donde producen las respuestas bioquímicas relativas al crecimiento y diferenciación de los tejidos y órganos, con los cuales se ponen en contacto.

Existen diferencias básicas entre las hormonas de animales y de vegetales en cuanto a su síntesis y actividad. Para las primeras, generalmente su biosíntesis y sitio de acción son específicos, en tanto que para vegetales no siempre es posible diferenciar el sitio de síntesis y el blanco de acción. Las hormonas de animales presentan efectos muy específicos; en cambio en las plantas el efecto puede consistir en un amplio intervalo de respuestas, lo que dependerá del órgano o tejido sobre el que actúan estas sustancias. Por ello, a las hormonas vegetales se les ha llamado "reguladores de crecimiento".

Considerando la naturaleza química y los efectos fisiológicos de estos reguladores, se les ha agrupado en cinco clases: AUXINAS, Citocinas, Giberelinas, Etileno y Ácido abséscico (1).



## AUXINAS

De manera general, las auxinas promueven el alargamiento celular, inhiben el crecimiento de la raíz y la formación de yemas laterales, fenómeno denominado dominancia apical. Intervienen en la diferenciación de traqueidas, estimulan la división celular y promueven la formación de callos. Están involucradas en el metabolismo de carbohidratos, ácidos nucleicos y síntesis de proteínas.

Las auxinas se pueden dividir en: naturales y sintéticas. El ácido indolacético (AIA), es la principal auxina natural en plantas superiores. Sin embargo, hay muchos compuestos sintéticos que pueden llamarse auxinas, ya que su acción fisiológica es similar a la del ácido indolacético.

Como se sabe, la concentración de auxinas disponible en los tejidos, puede tener un efecto sobre el crecimiento y diferenciación celular, por lo que resalta la importancia de los factores que limitan dicha concentración, éstos incluyen: síntesis, destrucción, inactivación (por otros procesos que no sea la destrucción de la molécula) y la regulación del transporte entre tejidos y órganos (2).

### SITIOS DE BIOSÍNTESIS DE LAS AUXINAS:

Existen diversos estudios sobre la distribución de la auxina dentro de la planta: sin embargo, debe recordarse que el nivel de la auxina en un órgano dado refleja un balance entre síntesis, metabolismo y transporte dentro y fuera del órgano.

Las auxinas se sintetizan en cantidades relativamente grandes, solamente en unos cuantos centros localizados, pero es transportada a través de todos los tejidos vivos de la planta. Las puntas de los tallos, particularmente las hojas jóvenes, son los centros donde más abunda la síntesis de auxinas en las plantas, otras fuentes ricas son los tejidos meristemáticos. como aquellos de las hojas jóvenes en desarrollo, flores, frutos y semillas (3).

A los coleóptilos cortados se les ha aplicado sobre el corte únicamente a la mitad del tallo auxinas en bloque de agar, y el estímulo del crecimiento en el lado tratado da como resultado un crecimiento en curva, esta prueba es sensible únicamente a las auxinas, las cuales son rápidamente transportadas en forma polar por el tejido del coleóptilo.

Las máxima concentración de auxinas se va a encontrar en la punta del coleóptilo, en las yemas y en los ápices de crecimiento de raíces y hojas. La concentración de auxinas desciende desde el ápice a la base del coleóptilo, de modo que el contenido máximo se

encuentra en el ápice y el mínimo en la base, continuando luego de la base del coleóptilo al ápice de la raíz, provocando un aumento de auxinas en la punta de la raíz (4).

## TRANSPORTE Y EFECTOS DE LAS AUXINAS.

La influencia de las auxinas en el crecimiento y desarrollo de las plantas son, reflejo del patrón polar de su distribución. Entre los procesos que se han visto influidos por este fenómeno se encuentran la dominancia apical y los tropismos, entre otros.

El movimiento de la auxina endógena en tallos es predominante en dirección basipétala, esto es, hacia la raíz. Hay evidencia de que en las plantas intactas la auxina endógena se mueve rápidamente en el floema, el transporte de auxinas en las raíces también es polar, siendo la dirección predominante, acropétala, de la base del tallo hacia la punta de la raíz. La polaridad del crecimiento se ha demostrado para el ácido naftalenacético (5).

Los efectos de la auxina están basados en la idea de que se puede cambiar la auxina endógena por auxina exógena, de la cual pueden reemplazarse los niveles y medir el efecto producido, no existe una separación definitiva entre la célula productora y la célula blanco. Cada célula contiene representantes de todos los fitorreguladores conocidos y estos compuestos interactúan consigo y con el regulador exógeno, de manera distinta dependiendo de sus niveles y del estado fisiológico en que se encuentra.

La aplicación exógena de fitorreguladores a tejidos vegetales, es una herramienta poderosa en la investigación de la acción de estos compuestos. En el caso particular de las auxinas, sus efectos son muy diversos cuando se aplican a plantas intactas y órganos aislados, entre los efectos fisiológicos destacan: la elongación del tallo, crecimiento de la raíz, abscisión de hojas y frutos, crecimiento de los frutos y crecimiento de yemas laterales (6).

Los efectos de las auxinas en función del tiempo de respuesta se dividen en dos principales categorías: las respuestas rápidas a auxinas: como la elongación celular, con periodo latente de 10-25 minutos y las respuestas de largo plazo, tales como la división celular y la diferenciación celular con periodos latentes en horas e incluso días.

La división celular involucra por un lado, la síntesis de ADN y por otro, el alargamiento y diferenciación celular implican cambios en el complemento protéico de las células. Se ha considerado que los fitorreguladores actúan por regulación de la duplicación de ADN y su transcripción a ARN (7).

## EFFECTOS DE LAS AUXINAS EN LOS ÁCIDOS NUCLEICOS.

Hay una gran cantidad de reportes sobre los cambios inducidos en los ácidos nucleicos por acción de las auxinas; sin embargo, no se ha podido establecer una hipótesis única con respecto al control hormonal de la duplicación, transcripción o transducción.

A la fecha, no se sabe con exactitud si los efectos fisiológicos inducidos o controlados por auxinas se llevan a cabo en un solo sitio de acción primaria, con una amplificación específica de la señal en cada tejido o si dichos efectos, se producen a través de varios mecanismos paralelos, también específicos para cada tejido (8).

Se ha examinado la relación entre auxinas; ácidos nucleicos con alargamientos celulares en diferentes sistemas. Uno de ellos, es el de epicótilos de lenteja donde hubo una correlación entre elongación celular inducida por auxinas y la síntesis del ADN, pero, en coleótilos de maíz y secciones de tubérculos de alcachofa no se encontró dicha correlación ya que el crecimiento inducido por la auxina no resultó afectado en presencia de un inhibidor de la síntesis del ADN. Debido a la diferencia de resultados incluidos en éstos, no se ha determinado con exactitud el papel que puede jugar la síntesis del ADN en el control del alargamiento celular por auxinas (9).

Varios investigadores han informado un incremento en la síntesis tanto de proteínas como de ARN en tejidos tratados con auxinas. Estos resultados sugieren que la acción primaria de las auxinas puede ser a nivel de transcripción. Estas sustancias podrían formar un complejo y alterar la transcripción. Esta hipótesis basada en la presencia de un receptor específico en apoyo en el mecanismo de acción de ciertas hormonas animales que actúan mediante la participación de receptores protéicos. Este modelo permite explicar la especificidad que aparentemente se requiere para obtener la respuesta a la aplicación de diferentes auxinas.

Al respecto se ha estudiado ampliamente la existencia de proteínas con alta afinidad para auxinas en diferentes tejidos vegetales, y se han localizado posibles receptores a nivel de membrana o citoplasma celular (10).

Las evidencias en relación a la funcionalidad de un receptor para auxinas son escasas, no obstante, se ha purificado en células de tabaco en cultivo una proteína identificada como receptor.

En un sistema *in vitro*, la adición de auxinas provoca un estímulo en la transcripción; por otro lado, en diferentes tejidos vegetales se han obtenido evidencias de que las auxinas pueden influir en la actividad de las polimerasas y en la disponibilidad del molde también las auxinas producen un incremento en los niveles de ARN el cual está asociado con la producción de polisomas (11).

Asimismo, se han detectado cambios específicos en las proteínas sintetizadas en diferentes tejidos vegetales, después de un tratamiento con auxinas. Las modificaciones de estos patrones implican cambios muy significativos, como la presencia de nuevas proteínas, proteínas que dejan de sintetizarse y que modulaban la velocidad de su síntesis. Esto se ha denominado patrón de proteínas auxino-modulables, cuya relación, al menos en parte, está a nivel de transcripción. Sin embargo, no se ha podido identificar la función de estas, pero se ha logrado una aproximación al identificar, entre un grupo de proteínas auxina-regulables, a las proteínas ribosomales. Por otro lado, para tratar de identificar este tipo de proteínas se han aislado los ARN, a partir de hipocótilos de soya y epicótilos de chícharos tratados con AIA. Estos mensajeros se han traducido en sistemas *in vitro* y se ha encontrado que varios de sus productos se originan por el efecto de auxinas; en la actualidad, se ha intentado su clonación. En algunos casos se han determinado sus secuencias y se ha encontrado que codifican para proteínas hidrofílicas (12).

#### AUXINAS Y DIVISIÓN CELULAR.

Los cultivos vegetales se originan a partir de diferentes tejidos u órganos, a través de la formación de un callo en crecimiento. Para sostener dicho crecimiento, se requiere de un medio adicionado de nutrientes y reguladores del crecimiento como son las citocininas y auxinas, cuya proporción varía ampliamente entre las diversas especies.

Aunque se han descrito las características generales de la iniciación del cultivo, solamente en unos cuantos casos y no recientemente, se han detallado algunos estudios sobre el ciclo celular (13).

#### PROTOPLASTOS.

Aunque los protoplastos presentan un número de ventajas sobre los explantes, para efectuar estudios sobre la iniciación del ciclo celular en cultivo, los estudios en el área son muy pocos. El cultivo de protoplastos de tabaco en presencia de auxina y citocinina aparentemente, conduce a las células a una progresión semi-sincrónica a través de ese. Podría parecer que se requieren ambos fitorreguladores para la iniciación de la síntesis del ADN y la mitosis, aunque el requerimiento de citocinina para la iniciación de la fase sólo se hace aparente después de un periodo de cultivo en presencia de la auxina sola (14).

#### CULTIVOS ESTABLECIDOS.

En general, todos los cultivos celulares de vegetales necesitan un suministro exógeno de auxinas para un continuo crecimiento.

La omisión de auxina conduce a un rápido cese del crecimiento y la división celular. En los casos donde no se requiere de dicho suministro, se han implicado niveles elevados de producción de auxina en cultivos de tabaco, el crecimiento con un medio adicionado con ácido naftalenacético (ANA) se ha observado primeramente mitosis iniciales no marcadas, y después mitosis marcadas (15).

La mayoría de tejidos que se les suministró auxina marcada indican que se incorpora en las proteínas sintetizadas en los extremos de los hipocótilos, lo cual puede enmascarar los cambios inducidos por estas. Si se remueven los extremos antes de analizar las proteínas, se encuentra que las auxinas producen cambios en las proteínas sintetizadas, los más dramáticos se observan en dos polipéptidos de 100 y 40000 daltones del peso molecular (16).

#### TEJIDO MADURO.

El efecto de auxinas en la síntesis de proteínas de hipocótilos que no elongan, también fue analizado.

Los resultados indican cambios más dramáticos y distintos en estas secciones que en las que elongan a la vez que algunas proteínas se estimulan (17).

#### EXPLANTES DE TUBÉRCULOS.

Los explantes de la alcachofa requieren de auxinas en los medios de cultivo para la inducción de la síntesis de DNA y la división celular.

Como ya se indicó anteriormente existen diversos problemas que impiden hacer experimentos de marcaje en vivo para analizar las respuestas a auxinas, por lo que se han intentado otras aproximaciones al estudio de las respuestas primarias de las auxinas. Entre éstas, se encuentra la traducción *in vitro* de los RNA mensajeros de tejidos tratados con auxina. La limitación de este sistema está determinada por la facilidad con que se obtengan los productos de traducción *in vitro* comparados con los que se sintetizan en vivo. La cantidad de radiactividad incorporada a un producto de traducción *in vitro* muestra generalmente una fuerza correlacionada con la abundancia de ese RNA mensajero.

En tiempos menores de incubación, las auxinas sólo modifican uno de los péptidos mencionados anteriormente en secciones de epicótilos de chícharo. Se encontró que el AIA modifica varios productos de traducción *in vitro* en el rango de 20 a 40 daltones, al menos tres de los cuales se alteraron después de 20 minutos de tratamiento. A tiempos mayores de tratamiento aumenta los productos de traducción modificados. En secciones de coleóptidos de maíz se han detectado cambios después de los diez minutos de aplicación de las auxinas. En general, los polipéptidos modificados en respuestas a auxinas tienen un peso molecular de 20 y 40 daltones. No se sabe si no se han detectado polipéptidos mayores porque no se modifican o porque se traducen con menor eficiencia en un sistema *in vitro*. La cinética de las alteraciones observadas por este método es lo suficientemente rápida para participar en la respuesta primaria; sin embargo, para poder asegurarlo se requieren más evidencias. Como evidencia en contra de que estas alteraciones participaron en la respuesta, se ha observado el hecho de que la abundancia de los productos modificados es muy baja (18).

## CLONACIÓN DE LOS RNA MENSAJEROS REGULADOS POR AUXINAS.

Otra aproximación al estudio de la regulación de los RNA mensajeros por acción de las auxinas, la representa la obtención de DNA complementarios mensajeros regulados usando la tecnología del DNA. Distintos grupos de investigadores han utilizado esta metodología para caracterizar los RNA mensajeros sensibles a la acción de las auxinas. Algunos de estos RNA mensajeros sensibles a auxinas se han traducido *in vitro* y se ha observado que las proteínas producidas corresponden a las informadas previamente por otras técnicas con pesos moleculares entre 25 y 35 mg.

Entre las características de estos RNA mensajeros se encuentran que los mensajeros inducidos representan del 0.001 al 0.01% y los reprimidos representan del 0.2 al 1% de RNA poli-A total en los tejidos intactos. Los primeros se inducen rápidamente (10 a 30 minutos) incrementándose de 2 a 50 veces, mientras que los últimos disminuyen de 9 a 6 veces después de 4 horas de tratamiento.

Respecto a la correlación existente entre los niveles de auxinas endógena y regulación de los niveles de los RNA mensajeros, no hay resultados concluyentes, ya que mientras los mensajeros reprimidos muestran correlación positiva, los otros las muestran negativas. La participación de los niveles de RNA mensajeros en la regulación por auxinas, dan una respuesta primaria a estos fitorreguladores.

Los estudios de la cinética de acumulación o disminución de los niveles de los RNA mensajeros reguladores por auxinas indican que dicha regulación se observa desde los 10-15 minutos e incluso 5 minutos posteriores al tratamiento. Estas respuestas son más rápidas que la inducción por giberelinas de alfa-amilasa en células de aleurona y comparables a las respuestas más rápidas de la inducción de RNA mensajeros en animales.

Los resultados de regulación en los niveles de RNA mensajeros por auxinas pueden deberse a una regulación transcripcional, o la regulación en el procesamiento post-transcripcional, o bien, a una estabilización y degradaciones selectivas de algunos RNA mensajeros. Para poder discernir entre opciones es necesario desarrollar un sistema de transcripción *in vitro* de genes vegetales seleccionados.

Respecto a la especificidad de la respuesta, ésta ha sido claramente demostrada en los sistemas de epicótilos de chícharo y de hipocótilos de soya. La incubación de estos tejidos con auxinas sintéticas, da la misma respuesta que la auxina natural AIA, en tanto que la aplicación de análogos inactivos no produce ninguna respuesta (19)

La identificación de los polipéptidos codificados por los RNA mensajeros regulados por auxinas de gran importancia para comprender el mecanismo de acción de estos fitorreguladores. Sin embargo, no hay un método directo que relacione los productos de traducción *in vitro* o sus RNA mensajeros con la naturaleza y función de estos polipéptidos, por lo que no requieren aproximaciones a este problema como son: secuenciar a los RNA mensajeros regulados por auxinas y sus productos de traducción y comparar estas secundarias

con las de otras proteínas que se encuentran de los polipéptidos con el uso de anticuerpos marcados.

Respecto a los RNA mensajeros regulados por auxinas a tiempo cortos (aprox. 10 min.), se considera que participan en la respuesta de la elongación (una respuesta rápida) y aún no se ha logrado identificar ninguno de sus productos de traducción. En cuanto a los RNA mensajeros regulados por auxinas en tiempos mayores (a los anteriores se considera que participan en respuestas más lentas como son la división y diferenciación celular) se han logrado identificar algunos de los polipéptidos para los que codifican.

Han reportado que las auxinas regulan los niveles del RNA mensajeros de la celulosa después de 12 hrs. de tratamiento; sin embargo, el aumento en la actividad de celulosa se detecta hasta más de la regulación en los niveles del mensaje (regulación transcripcional), debe existir otro control post-transcripcional o tradicional en esta proteína. Los grupos de Guilfoyle y de Miassod han reportado la regulación por auxinas de los RNA polimerasas I y II, sugieren que dicha regulación es a nivel transcripcional. Por otra parte Gantt y Key han encontrado que las auxinas regulan de manera coordinada los niveles de los RNA mensajeros de diversas proteínas ribosomales

Los resultados anteriores no desechan la acción de auxinas a nivel de RNA polimerasa, que pudiere transcribir preferentemente ciertas zonas del DNA (20).

#### MECANISMO Y MODO DE ACCIÓN DE LAS AUXINAS.

Para determinar cómo actúan los fitorreguladores en las células vegetales, especialmente cuando hay tal diversidad de respuestas, es esencial distinguir entre el nacimiento de acción primario, (que se refiere a la reacción inicial disparadora de las respuestas observadas) y el modo de acción que está relacionado con la de pasos que conducen a las respuestas fisiológicas

Al estudiar el mecanismo de acción de los fitorreguladores surgen varias dudas, que es necesario aclarar, como son:

- Determinar la naturaleza de los componentes celulares que perciben al fitorregulador.
- Determinar la contribución del estado fisiológico de las células blanco en las respuestas al fitorregulador.

Las diversas respuestas observadas al aplicar el fitorregulador revelan uno o varios mecanismos de acción.

Respecto a esta última duda, existe una corriente que señala que, aunque es difícil formular un solo mecanismo de acción aplicable a todas las situaciones, es posible que una sola reacción "maestra" fuera responsable de disponer las distintas acciones que producirían las diferentes respuestas, dependiendo del estado genético y metabólico de la célula blanco.



Otra corriente sugiere que las distintas respuestas dependen de diversas interacciones primarias del fitorregulador con las células de distintos mecanismos de acción.

Tratando de dar respuestas a las preguntas autorizadas y con el fin de conocer el mecanismo de acción de las auxinas, se han seguido distintas aproximaciones experimentales, entre las que se encuentran:

- El aislamiento y caracterización de los receptores de auxinas en los tejidos de respuestas.
- El estudio del efecto de las auxinas en la regulación de la expresión genética en los tejidos de respuesta.
- El estudio de cinética de las respuestas al fitorregulador.

La rapidez de la respuesta de elongación celular a auxinas ha hecho que la mayoría de los estudios sobre el mecanismo de acción se enfoque a este efecto, mientras que otras respuestas reales, como la división o diferenciación han recibido mucha menor atención.

Para explicar las bases moleculares de la elongación celular inducida por auxinas se han propuesto dos hipótesis aparentemente incompatibles, que generaron grandes controversias y que dirigieron la investigación en este campo por un periodo muy prolongado.

La hipótesis de la expresión genética, propuesta por Key y colaboradores, sostenía que las auxinas actúan en algún punto de la transcripción y / o traducción, regulando la síntesis de polipéptidos necesarios en el proceso del crecimiento (21).

Esta hipótesis fue ampliamente aceptada en la década de los 60, ya que se informaron diversas evidencias que la apoyaban.

Entre estas evidencias se encuentran los estudios de elongación celular en que la transportación de la auxina exógena la restituía.

Sin embargo, si junto con la auxina exógena se adicionaba un inhibidor de la transcripción o de la traducción, como por ejemplo la actinomicina D o la cicloheximida, la auxina era incapaz de inducir la elongación. Otras evidencias que apoyan esa hipótesis son en mayor parte la incorporación de precursores radiactivos en el RNA y las proteínas en tejidos tratados con auxinas.

En 1969 Evans y Ray informaron resultados que rebatían la hipótesis de la expresión genética. Estos investigadores presentaron una técnica que les permitía medir minuto a minuto la elongación de coleóptilos en respuesta a las auxinas. Los resultados indicaban un periodo de adaptación de aproximadamente 10 – 15 min. antes de que la respuesta fuera medible. Estos autores argumentaban que éste era un periodo de aumento muy corto para permitir la regulación con base en la expresión genética (22).

Por otra parte, las técnicas disponibles en este tiempo no permitirían detectar cambios en las proteínas o los RNA mensajeros específicos en respuesta a las auxinas, ya que los tiempos que fueran lo suficientemente cortos para inducir la elongación celular.

Además existían múltiples dudas respecto a la interpretación de los resultados de los experimentos con inhibidores de la transcripción y la traducción. Esto sobre la base de que quedaba la posibilidad de que la inhibición de la elongación inducida por auxinas, causada por estos compuestos, se debería a otros eventos no relacionados directamente con la acción de las auxinas.

La hipótesis del crecimiento ácido fue propuesta en los inicios de la década de los 70 por Hager y Cleland, quienes sostenían que la elongación celular en respuesta a las auxinas se iniciaba por la secreción de protones inducida por ellas. Entre las evidencias que apoyan estas hipótesis tenemos: a) la inducción de la elongación celular por auxinas en el tejido "blanco", que puede ser sustituida por protones exógenos; el uso de amortiguadores con pH mayor a 6, con el medio externo inhibe la elongación celular inducida por auxinas; en algunos sistemas (chícharo, maíz y avena), se ha podido demostrar que las auxinas inducen la acidificación del medio extracelular (23).

Esta hipótesis hizo que los experimentos se enfocaran a estudios del efecto de las auxinas en la membrana y las paredes celulares. Sin embargo, en la actualidad, no se ha logrado caracterizar una ATPasa de protones regulada por auxinas, ni se conocen exactamente los mecanismos moleculares que hacen que el acidificante en el medio celular se induzca mediante la elongación celular.

Posteriormente Vanderhoef integró ambas hipótesis en una sola que pudiera explicar la cinética bifásica en el crecimiento que a menudo se obtiene.

## GEOTROPISMO Y FOTOTROPISMO.

La mayoría de las plantas crecen verticalmente hacia arriba y hacia abajo, enviando invariablemente raíces al suelo y tallos hacia arriba, en busca de la luz y aire necesario.

Pero el embrión vegetal en cuestión, es vital. Necesita extender sus raíces en el suelo en busca de agua y de alimentos y sacar su tallo del suelo en busca de aire, consiguiéndolo gracias a la fuerza de gravedad.

No hay duda de que las raíces o tallos de las plantas son muy sensibles a la gravedad, siempre ajustará de modo que pocas horas después las raíces apunten hacia abajo y el tallo hacia arriba. A dicho fenómeno se le denomina: GEOTROPISMO.

La mayoría de los tallos responde a la luz y se logra que un tallo crezca inclinado si se sitúa en una habitación oscura con una sola fuente luminosa. Esta respuesta a la luz es un fenómeno llamado: FOTOTROPISMO (24).

Las raíces tienden a dirigirse y concentrarse hacia las capas del suelo, particularmente ricas en agua y en minerales.

Puesto que la auxina se ha identificado como el factor principal de este crecimiento, parece lógico suponer que la gravedad y la luz actúan de algún modo sobre ellas. En realidad la auxina misma no se altera por estos factores, pero sí su movimiento desde el ápice del tallo o de la raíz donde se forma.

La gravedad hace que la mayoría de la auxina misma se recoja y fluya por la mayoría inferior del tallo, estimulando el crecimiento de la parte inferior del tallo, enderezándolo nuevamente. Asimismo, la luz parece desviar a la auxina de ella.

Así, un tallo que se incline alejándose de su fuente de luz, recibe a una auxina más en el lado oscuro (25).

## CINÉTICA DE LA DIVISIÓN CELULAR.

La cinética de la división celular en los diferentes meristemas de ejes embrionarios de maíz crecidos bajo dos sistemas de incubación denominados en el trabajo como *in vitro*, muestra un patrón muy similar; de manera que parece haber un orden programado entre esos tejidos para reiniciar el ciclo celular. Las primeras figuras mitóticas se presentan en la región del mesocótilo, alrededor de las 18 a las 22 hrs. después de la inhibición, seguida por las raíces seminales y raíz primaria.

Este reinicio de la mitosis en forma programada es evidente a pesar de que el sistema de incubación *in vitro* muestra actividad mitótica antes que el sistema *in vitro*. Muy probablemente este retraso está relacionado con el hecho de que el agua entra en contacto con el eje embrionario más rápidamente en aquellos aislados que el caso de la incubación de semillas completas, en las cuales la testa es la primera estructura en humedecerse.

Como se mencionó anteriormente, el primer tejido que reinicia la división celular es el mesocótilo y no la raíz primaria como la han señalado Van de Waller, Bernier, Stein y Quastler para el maíz. Sin embargo, los resultados obtenidos son consistentes con los encontrados por Picklum, quien menciona que la mitosis en dicho cereal se presenta primero en el mesocótilo y a las 24 hrs. de inhibición en la radícula (26).

En los tres meristemas estudiados, la división celular parece ser sincrónica, ya que, como se observa en todos los tejidos analizados e independientemente del sistema de crecimiento utilizado (*in vitro*), las curvas del índice mitótico con respecto al tiempo muestran un pico, lo cual indica que se tiene bajo estudio una sola población celular. La región del mesocótilo en el sistema *in vitro* tiene un comportamiento diferente, pues se observan dos poblaciones que entran a división durante el periodo de crecimiento, fenómeno que se conformó al determinar el porcentaje de mitosis marcadas en el mismo sistema (27).

Por otro lado, en relación a las fases de la mitosis (profase, metafase, anafase y telofase) se han observado que en algunos meristemos de raíz hay sincronía durante la germinación, como se ha demostrado en *Vicia faba* y en *Allium*. Al respecto, Sans y colaboradores, sugieren que algo más que la variabilidad genética (probablemente una absorción irregular de agua), es la causa de tal asincronía, ya que, el desarrollo de raíces genéticamente idénticas en un solo bulbo es también un evento asincrónico.

También en ambos sistemas de incubación la división celular se hace evidente cómo poblaciones de células entrando a mitosis en tiempos específicos, cuya frecuencia de aparición abarca un tiempo aproximado de 8 hrs., tanto en el mesocótilo como en las raíces seminales. Gonthier y colaboradores, han encontrado en el meristemo del ápice del tallo de *Sinapis sp* ambas poblaciones celulares detenidas, las cuales, al ser estimuladas a dividirse, lo hacen en ondas mitóticas. Así mismo ellos han sugerido también que en el meristemo coexisten células dividiéndose lenta y rápidamente. De manera similar la presencia de ondas mitóticas entre 6 hrs. cada una, se han detectado en *allium*, probablemente debido a la cantidad o a la posición de las células en diferentes puntos del ciclo celular (28).

Por otro lado, en los tejidos del eje de maíz, la proporción de las fases de la mitosis es constante a través del tiempo de incubación estudiado. La profase es la etapa que se presentó en mayor proporción. Esto concuerda con el hecho de que la longitud de las fases se relaciona con la fracción (porcentaje) de células encontradas en cada fase en un tiempo determinado. Los resultados sugieren que la profase (con un 50 a 60%) tiene una mayor duración que las demás fases, las cuales aparentemente presentan una mayor duración similar entre ellas a través del tiempo (15 a 20%). Estos datos parecen ser consistentes con los objetivos para ciclos celulares de diferentes gramíneas, entre otras muchas. A su vez esta consistencia en el porcentaje de células en cada fase señala la existencia de un flujo celular continuo para cada etapa, es decir, células dentro de un ciclo constantemente en la misma proporción (29).

## NAFTALENO.

El naftaleno es un compuesto aromático, de fórmula  $C_{10}H_8$ . Las reacciones típicas del naftaleno son sustitución electrofílica aromática (SEA), en las que se sustituye un hidrógeno, conservándose el sistema anular, al igual que el benceno, el naftaleno excepcionalmente establece su calor de combustión inferior a 61 kcal.

Desde el punto de vista experimental de acuerdo a sus propiedades, el naftaleno se clasifica como aromático. La teoría indica que tiene una estructura que se espera en un compuesto aromático, contiene anillos planos de 6 átomos y sus orbitales atómicos pueden proporcionar nubes que contienen 6 electrones, es decir, el sexteto aromático.

## REACCIONES DEL NAFTALENO.

Al igual que el benceno, el naftaleno efectúa reacciones típicas de sustitución electrofílica, como consecuencia de ser un compuesto aromático.

El naftaleno se reduce y se oxida con mayor facilidad que el benceno, pero sólo hasta la etapa en que se genera un benceno sustituido. Una reducción u oxidación mayor requiere de condiciones más enérgicas. El naftaleno se estabiliza por resonancia en 61 kcal/mol; mientras que el benceno lo hace en 25 kcal/mol de energía de resonancia, mientras que para dicha etapa es necesario quitar 36 kcal/mol (30).

## OXIDACIÓN DEL NAFTALENO.

La oxidación del naftaleno con la presencia del pentóxido de vanadio, destruye uno de los anillos generando anhídrido ftálico. Por la gran demanda que tiene, este es un proceso industrial importante, ya que, el naftaleno es de fácil acceso a partir del alquitrán de hulla.

## ACCIÓN SOBRE LAS PLANTAS.

En el grupo de ácidos naftalénicos destacan: ácido naftalenacético y el ácido  $\beta$  naftoxiacético, que son de potente acción sobre los vegetales, especialmente en la hoja ancha (dicotiledones). A dosis superiores a las necesarias para el crecimiento, causan trastornos para el vegetal, incluso la casi total defoliación del mismo, que conduce pronto a su muerte. Dada su relativa especificación se emplea en la agricultura como foliantes, fundamentalmente para preservar campos de gramíneas así como para algunos tratamientos especiales para cultivos diversos.

**ÁCIDO  $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO  $C_{12}H_{10}O_2$**  En la zona submeristemal de algunas gramíneas, funciona como regulador de crecimiento.

**ÁCIDO  $\beta$ -NAFTOXIACÉTICO  $C_{12}H_{10}O_3$**  Hormona en la planta que promueve el crecimiento de la raíz rota, para prevenir que el fruto caiga prematuramente, causando aturdimiento en el crecimiento cuando se usa en exceso (31).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La presente investigación tiene como origen el hecho de que en la región Oriente del Estado de México, dentro de la cual se encuentra el Municipio y la población de Ozumba, actualmente cuenta con una baja productividad y calidad en los productos agrícolas, la cual se pretende mejorar utilizando en ellos las auxinas sintetizadas en este trabajo, para que al mismo tiempo, puedan tener un menor costo.

La investigación se inició considerando hormonas de crecimiento (auxinas) en plantas con el objeto de mejorar la calidad de los productos agrícolas que con su utilización se obtengan. Es preciso aclarar que la producción de dichas hormonas en laboratorio es costosa dada la facilidad para obtenerlas y debido a lo económico que resulta la adquisición de los reactivos para su elaboración. Debido a esto los campesinos podrían adquirirlas a un costo muy bajo si se produjeran en nuestro país.

Además es importante mencionar que esta investigación presenta la propuesta de que las hormonas se produzcan no sólo para un nivel regional -lo cual es en sí mismo de gran importancia-, sino que se produzcan para utilizarlas a nivel nacional, dadas las características propias del país -con lo cual la importancia evidentemente se incrementa. Con esto la producción agrícola nacional en la cual se utilicen las hormonas de crecimiento, tendrá un costo más bajo, además incrementará su calidad y representará una mayor competitividad a nivel internacional.

Por estas razones se considera que es necesario que esta investigación se lleve a cabo.

## OBJETIVOS.

- 1.- Obtener el ácido  $\alpha$ -naftalenacético utilizando como materia prima el naftaleno
- 2.- Obtener el ácido  $\beta$ -naftoxiacético a partir del  $\beta$ -naftol.
- 3.- Obtener los ésteres etílico y metílico de cada uno de los ácidos.

## HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Partiendo del hecho de que el naftaleno es un compuesto aromático y efectúa reacciones de sustitución electrofílica, entonces al hacerlo reaccionar con el ácido cloroacético, se podrá sintetizar el ácido  $\alpha$ -naftalenacético.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La presente investigación tiene como origen el hecho de que en la región Oriente del Estado de México, dentro de la cual se encuentra el Municipio y la población de Ozumba, actualmente cuenta con una baja productividad y calidad en los productos agrícolas, la cual se pretende mejorar utilizando en ellos las auxinas sintetizadas en este trabajo, para que al mismo tiempo, puedan tener un menor costo.

La investigación se inició considerando hormonas de crecimiento (auxinas) en plantas con el objeto de mejorar la calidad de los productos agrícolas que con su utilización se obtengan. Es preciso aclarar que la producción de dichas hormonas en laboratorio es costosa dada la facilidad para obtenerlas y debido a lo económico que resulta la adquisición de los reactivos para su elaboración. Debido a esto los campesinos podrían adquirirlas a un costo muy bajo si se produjeran en nuestro país.

Además es importante mencionar que esta investigación presenta la propuesta de que las hormonas se produzcan no sólo para un nivel regional -lo cual es en sí mismo de gran importancia-, sino que se produzcan para utilizarlas a nivel nacional, dadas las características propias del país -con lo cual la importancia evidentemente se incrementa. Con esto la producción agrícola nacional en la cual se utilicen las hormonas de crecimiento, tendrá un costo más bajo, además incrementará su calidad y representará una mayor competitividad a nivel internacional.

Por estas razones se considera que es necesario que esta investigación se lleve a cabo.

## OBJETIVOS.

- 1.- Obtener el ácido  $\alpha$ -naftalenacético utilizando como materia prima el naftaleno
- 2 - Obtener el ácido  $\beta$ -naftoxiacético a partir del  $\beta$ -naftol.
- 3.- Obtener los ésteres etílico y metílico de cada uno de los ácidos.

## HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Partiendo del hecho de que el naftaleno es un compuesto aromático y efectúa reacciones de sustitución electrofílica, entonces al hacerlo reaccionar con el ácido cloroacético, se podrá sintetizar el ácido  $\alpha$ -naftalenacético

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La presente investigación tiene como origen el hecho de que en la región Oriente del Estado de México, dentro de la cual se encuentra el Municipio y la población de Ozumba, actualmente cuenta con una baja productividad y calidad en los productos agrícolas, la cual se pretende mejorar utilizando en ellos las auxinas sintetizadas en este trabajo, para que al mismo tiempo, puedan tener un menor costo.

La investigación se inició considerando hormonas de crecimiento (auxinas) en plantas con el objeto de mejorar la calidad de los productos agrícolas que con su utilización se obtengan. Es preciso aclarar que la producción de dichas hormonas en laboratorio es costosa dada la facilidad para obtenerlas y debido a lo económico que resulta la adquisición de los reactivos para su elaboración. Debido a esto los campesinos podrían adquirirlas a un costo muy bajo si se produjeran en nuestro país.

Además es importante mencionar que esta investigación presenta la propuesta de que las hormonas se produzcan no sólo para un nivel regional -lo cual es en sí mismo de gran importancia-, sino que se produzcan para utilizarlas a nivel nacional, dadas las características propias del país -con lo cual la importancia evidentemente se incrementa. Con esto la producción agrícola nacional en la cual se utilicen las hormonas de crecimiento, tendrá un costo más bajo, además incrementará su calidad y representará una mayor competitividad a nivel internacional.

Por estas razones se considera que es necesario que esta investigación se lleve a cabo.

## OBJETIVOS

- 1.- Obtener el ácido  $\alpha$ -naftalenacético utilizando como materia prima el naftaleno
- 2.- Obtener el ácido  $\beta$ -naftoxiacético a partir del  $\beta$ -naftol.
- 3.- Obtener los ésteres etílico y metílico de cada uno de los ácidos.

## HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Partiendo del hecho de que el naftaleno es un compuesto aromático y efectúa reacciones de sustitución electrofílica, entonces al hacerlo reaccionar con el ácido cloroacético, se podrá sintetizar el ácido  $\alpha$ -naftalenacético.



De manera paralela, el  $\beta$ -naftol efectua una reacción de sustitución nucleofílica a carbono saturado cuando reacciona con el ácido cloroacético.

#### MATERIAL Y EQUIPO.

- Soporte Universal
- Canastilla
- Anillo de hierro
- Tela de hierro con asbesto
- Matraz de bola de dos bocas 13/22 125 mL Pyrex
- Refrigerante 13/22 Pyrex
- Adaptador para termómetro 13/22 Pyrex
- Manguera latex
- Pinzas para Bureta
- "Y" de destilación 13/22 Pyrex
- Adaptador para vacío 13/22 Pyrex
- Matraz de bola de 1 boca 13/22 Pyrex
- Termómetro de 0-400°C Taylor
- Embudo de filtración por gravedad con estrias tallo corto Pyrex
- Vaso de precipitado 50 mL Pyrex
- Papel filtro Whatman no. 5

#### INSTRUMENTOS

- 1.- Espectrofotómetro en el Infrarrojo con Transformadas de Fourier, Perkn Elmer 1600 (FTIR).
- 2.- Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno. Marca Varian modelo A360.
- 3.- Determinación del Punto de Fusión Fisher.

#### SÍNTESIS DEL ÁCIDO $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO

REACTIVOS	CANTIDAD	GRADO	VALOR POR GRAMO* (en dólares)
Naftaleno	0.01 moles	Técnico	\$ 0.75
Ácido cloroacético	0.01 moles	Técnico	\$ 0.18
Bromuro de potasio	0.001 moles	Técnico	\$ 0.95
Trióxido de cromo	0.001 moles	Técnico	\$ 1.86
<b>PRODUCTO</b>			
Ác. $\alpha$ Naftalenacético	0.01 moles	Técnico	\$ 4.33

\*1 dólar = \$ 9 50

De manera paralela, el  $\beta$ -naftol efectua una reacci3n de sustituci3n nucleof3lica a carbono saturado cuando reacciona con el 1cido cloroac3tico

#### MATERIAL Y EQUIPO.

- Soporte Universal
- Canastilla
- Anillo de hierro
- Tela de hierro con asbesto
- Matraz de bola de dos bocas 13/22 125 mL Pyrex
- Refrigerante 13/22 Pyrex
- Adaptador para term3metro 13/22 Pyrex
- Manguera latex
- Pinzas para Bureta
- "Y" de destilaci3n 13/22 Pyrex
- Adaptador para vac3o 13/22 Pyrex
- Matraz de bola de 1 boca 13/22 Pyrex
- Term3metro de 0-400°C Taylor
- Embudo de filtraci3n por gravedad con estrias tallo corto Pyrex
- Vaso de precipitado 50 mL Pyrex
- Papel filtro Whatman no. 5

#### INSTRUMENTOS

- 1.- Espectrofot3metro en el Infrarrojo con Transformadas de Fourier, Perkin Elmer 1600 (FTIR).
- 2.- Espectr3metro de Resonancia Magn3tica Nuclear de Hidr3geno. Marca Varian modelo A360.
- 3.- Determinaci3n del Punto de Fus3n Fisher.

#### S3NTESIS DEL 1CIDO $\alpha$ -NAFTALENAC3TICO

REACTIVOS	CANTIDAD	GRADO	VALOR POR GRAMO* (en d3lares)
Naftaleno	0.01 moles	T3cnico	\$ 0.75
1cido cloroac3tico	0.01 moles	T3cnico	\$ 0.18
Bromuro de potasio	0.001 moles	T3cnico	\$ 0.95
Tri3xido de cromo	0.001 moles	T3cnico	\$ 1.86
<b>PRODUCTO</b>			
1c. $\alpha$ Naftalenac3tico	0.01 moles	T3cnico	\$ 4.33

\*1d3lar = \$ 9.50

De manera paralela, el  $\beta$ -naftol efectua una reacción de sustitución nucleofílica a carbono saturado cuando reacciona con el ácido cloroacético.

#### MATERIAL Y EQUIPO.

- Soporte Universal
- Canastilla
- Anillo de hierro
- Tela de hierro con asbesto
- Matraz de bola de dos bocas 13/22 125 mL Pyrex
- Refrigerante 13/22 Pyrex
- Adaptador para termómetro 13/22 Pyrex
- Manguera latex
- Pinzas para Bureta
- "Y" de destilación 13/22 Pyrex
- Adaptador para vacío 13/22 Pyrex
- Matraz de bola de 1 boca 13/22 Pyrex
- Termómetro de 0-400°C Taylor
- Embudo de filtración por gravedad con estrias tallo corto Pyrex
- Vaso de precipitado 50 mL Pyrex
- Papel filtro Whatman no. 5

#### INSTRUMENTOS

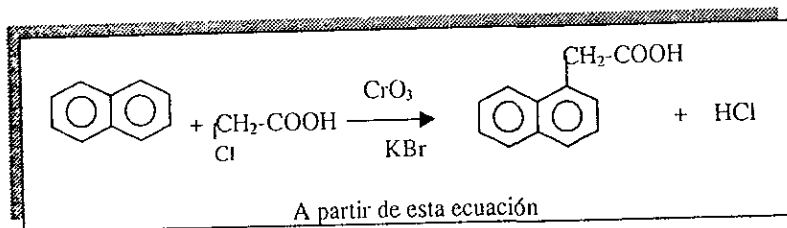
- 1.- Espectrofotómetro en el Infrarrojo con Transformadas de Fourier, Perkin Elmer 1600 (FTIR).
- 2.- Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno. Marca Varian modelo A360.
- 3.- Determinación del Punto de Fusión Fisher.

#### SÍNTESIS DEL ÁCIDO $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO

REACTIVOS	CANTIDAD	GRADO	VALOR POR GRAMO* (en dólares)
Naftaleno	0.01 moles	Técnico	\$ 0.75
Ácido cloroacético	0.01 moles	Técnico	\$ 0.18
Bromuro de potasio	0.001 moles	Técnico	\$ 0.95
Trióxido de cromo	0.001 moles	Técnico	\$ 1.86
<b>PRODUCTO</b>			
Ác. $\alpha$ Naftalenacético	0.01 moles	Técnico	\$ 4.33

\*1dólar = \$ 9 50

## PROCEDIMIENTO.



Pesar ( 0.01 moles ) de naftaleno, ( 0.01 moles ) de ácido cloroacético, ( 0.001 moles ) de trióxido de cromo y (0.001 moles) de bromuro de potasio

Refluir por 8 horas siguiendo la reacción por cromatografía de capa fina.

Eliminar reactivo no reaccionado con una destilación a baja presión

Acidificar con HCl

Neutralizar con NaOH

Extraer con Cloruro de Metileno

Cristalizar y purificar con Agua

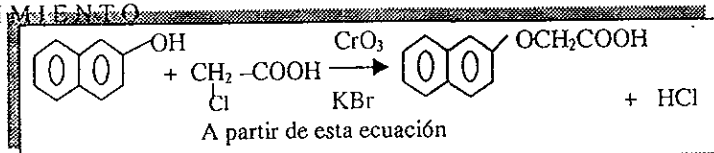
Realizar pruebas físicas de caracterización e identificación del producto obtenido

## SÍNTESIS DEL ÁCIDO $\beta$ -NAFTOXIACÉTICO

REACTIVOS	CANTIDAD	GRADO	VALOR POR GRAMO* (en dólares)
Ácido cloroacético	0.01 moles	Técnico	\$ 0.18
Bromuro de potasio	0.001 moles	Técnico	\$ 0.95
Trióxido de cromo	0.001 moles	Técnico	\$ 1.86
$\beta$ -Naftol	0.01 moles	Técnico	\$ 0.70
<b>PRODUCTO</b>			
Ác. $\beta$ Naftoxiacético	0.01 moles	Técnico	\$ 3.34

\* 1 dólar = \$ 9.50

## PROCEDIMIENTO



Pesar (0.01 moles) de  $\beta$ -Naftol, (0.01 moles) de ácido cloroacético, (0.001 moles) de trióxido de cromo y (0.001 moles) de bromuro de potasio

Refluir por 8 horas siguiendo la reacción por cromatografía de capa fina.

Eliminar reactivo no reaccionado con una destilación a baja presión

Acidificar con HCl

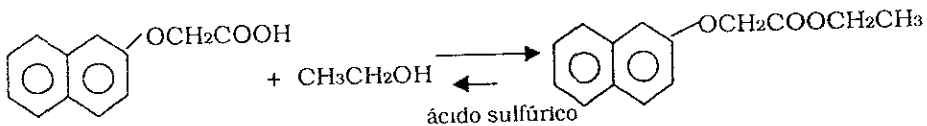
Neutralizar con NaOH

Extraer con Cloruro de Metileno

Cristalizar y purificar con Agua

Realizar pruebas físicas de caracterización e identificación del producto obtenido

## SÍNTESIS DEL ESTER ETÍLICO DEL ÁCIDO $\beta$ -NAFTOXIACÉTICO



para una proporción 1:8 de ácido carboxílico y alcohol etílico

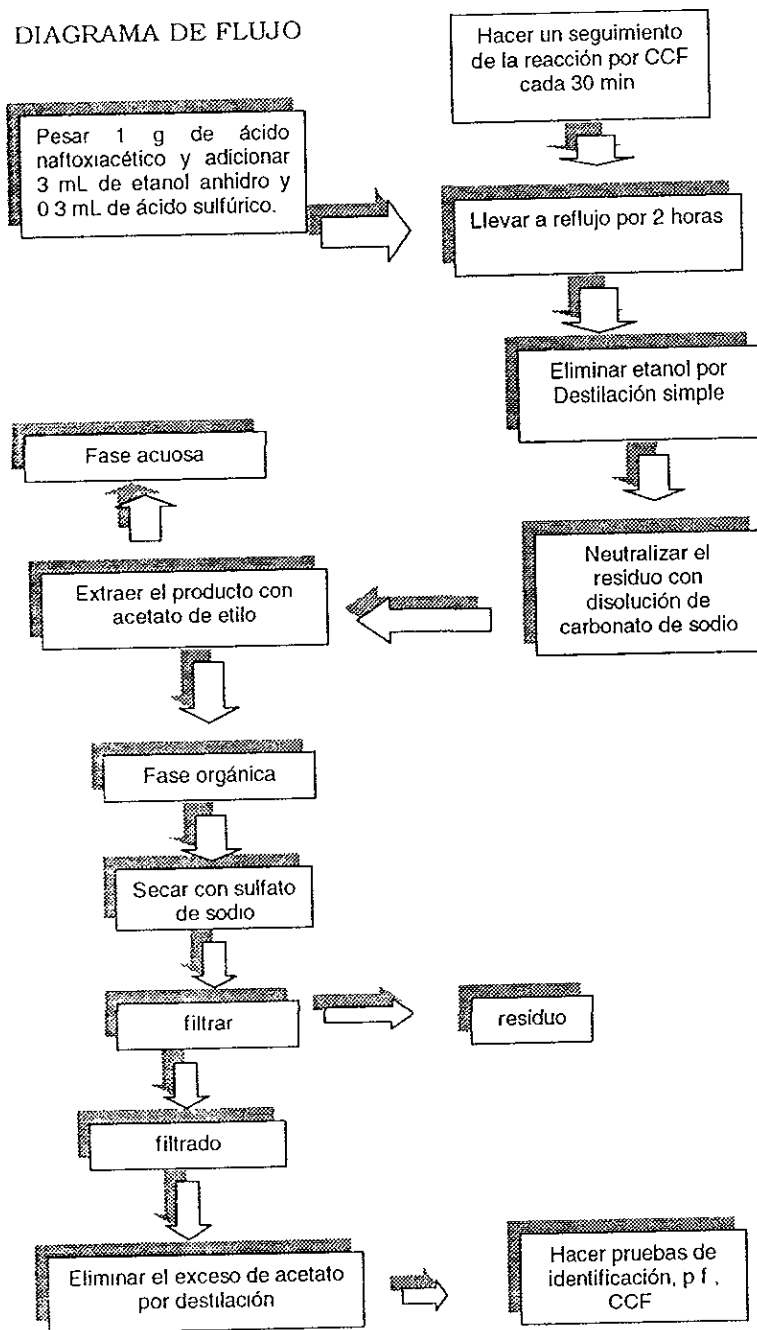
$$1\text{g (1 mol/202.20g de ácido naftoxiacético)} = 0.0049 \text{ mol}$$

$$0.0049 \text{ mol}(8) = 0.0392 \text{ mol}$$

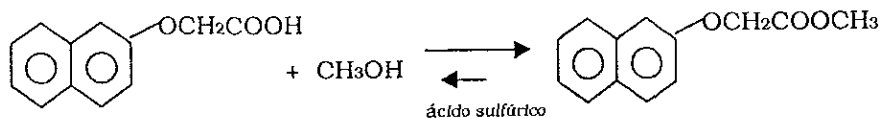
$$0.0392 \text{ mol (46.07g / 1mol)}(1\text{ml}/0.789) = 2.28 \text{ ml de etanol}$$

Se utiliza 0.3 mL de ácido sulfúrico como catalizador

## DIAGRAMA DE FLUJO



## SÍNTESIS DEL ESTER METÍLICO DEL ÁCIDO $\beta$ -NAFTOXIACÉTICO



para una proporción 1:8 de ácido carboxílico y alcohol metílico

$$1\text{g (1 mol/202.20g de ácido NAFTOXIACÉTICO)} = 0.0049 \text{ mol}$$

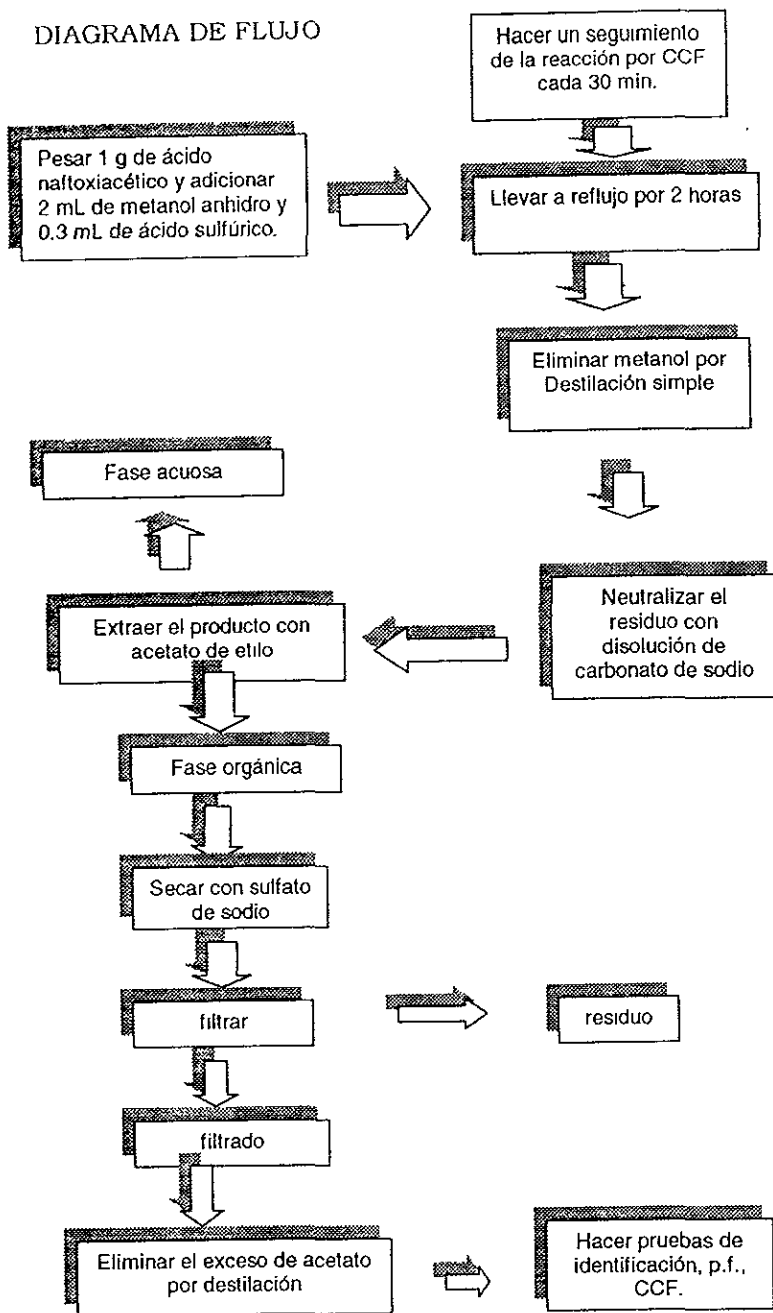
$$0.0049 \text{ mol}(8) = 0.0392 \text{ mol}$$

$$0.0392 \text{ mol}(32.04\text{g/1mol})(1\text{ml}/0.78\text{g}) = 1.610 \text{ ml de metanol}$$

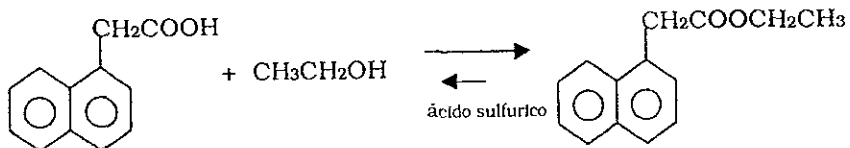
Se utiliza 0.3 mL ácido sulfúrico como catalizador



# DIAGRAMA DE FLUJO



## SÍNTESIS DEL ÉSTER ETÍLICO DEL ÁCIDO $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO.



1g de ácido  $\alpha$ -naftalenacético  $\rightarrow$  0.0054 mol

para una proporción de 1: 8 de ácido  $\alpha$ -naftalenacético y etanol

0.00054 mol (8) ( 78g etanol / 1 mol) = 3.3696 g etanol

3.3696 g (1mL / 0.78 g) = 4.32 mL de etanol

Se agregan 0.3 mL de ácido sulfúrico como catalizador

### Diagrama de flujo del éster etílico.

Adicionar a 1g de ácido  $\alpha$ -naftalenacético 4.32mL de etanol y 0.3mL de  $H_2SO_4$  concentrado más benceno.



Reflujo en condiciones anhidras durante 4hr utilizando Dean Stark → Hacer cromatografía de capa fina



Neutralizar con disolución de  $NaHCO_3$  (pH 7)



Extraer con acetato de etilo (con 10mL 3 veces) → cromatografía de capa fina a las 2 fases



Destilación simple



Destilación al vacío



Cromatografía en placa preparativa (con acetato de etilo como eluyente)

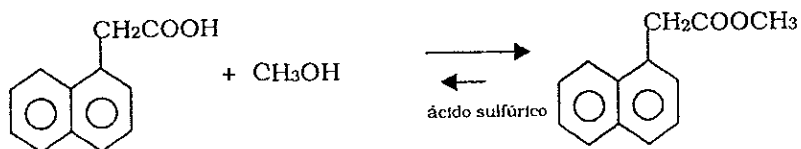


Separar de la silicagel con acetato de etilo



Destilación simple

## SÍNTESIS DEL ÉSTER METÍLICO DEL ÁCIDO $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO



1g ácido  $\alpha$ -naftalenacético = 0.0054moles

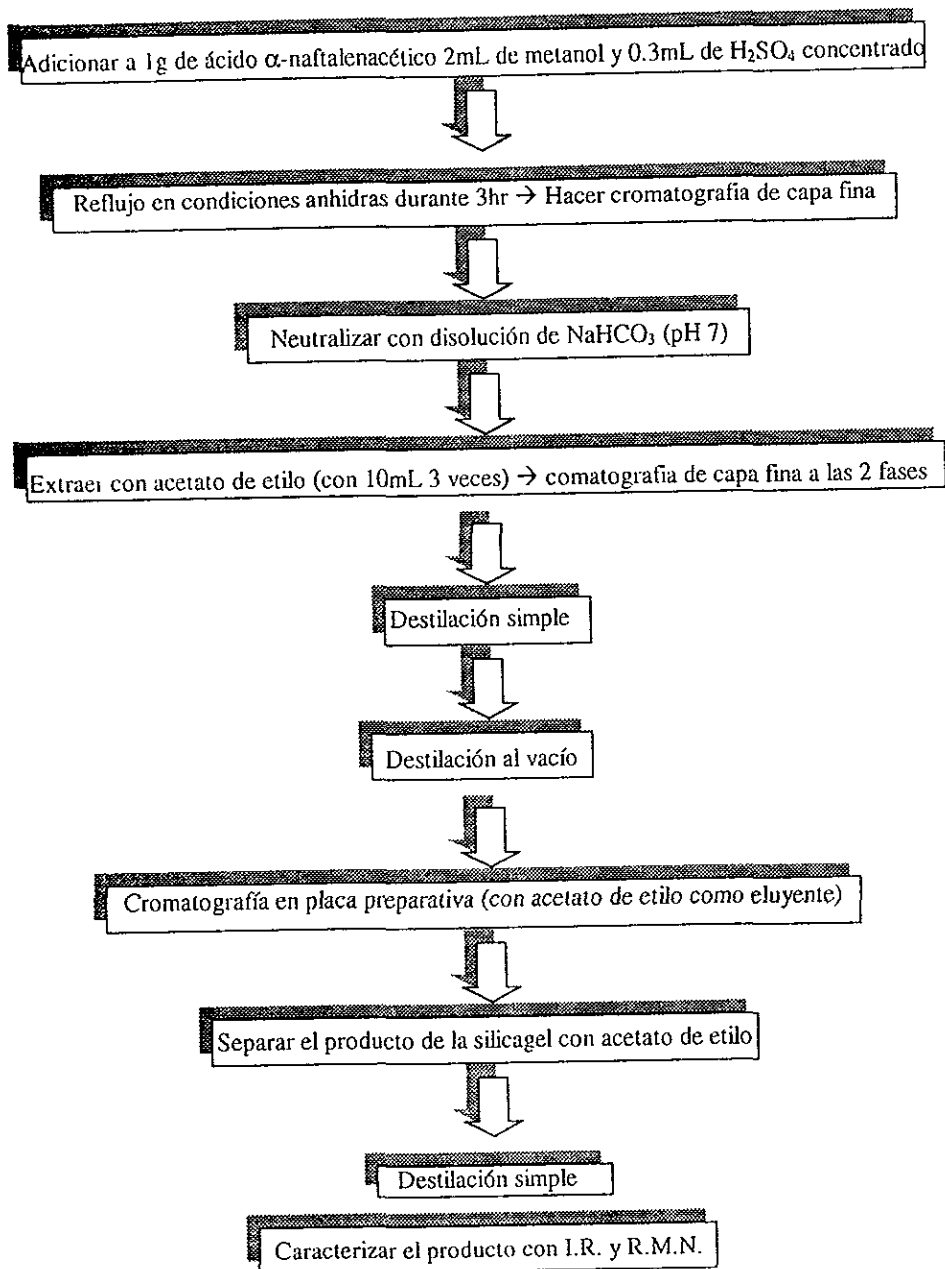
para una proporción de 1 : 8 de ácido  $\alpha$ -naftalenacético y metanol

8 (0.0054moles de metanol) (32.04g metanol / 1mol) = 1.384g de metanol

1.384g metanol (1mL / 0.78g) = 1.774 mL de metanol

Se agrega 0.3mL de ácido sulfúrico como catalizador

## Diagrama de flujo del éster metílico.



## RESULTADOS

A los ácidos obtenidos en el laboratorio se les hicieron sus pruebas físicas de caracterización e identificación, obteniéndose de las primeras pruebas los siguientes resultados:

RENDIMIENTO	EXPERIMENTAL		INFORMADO	
Ác. $\alpha$ -Naftalenacético	1.51g	75.5%	2g	100%
Ác. $\beta$ -Naftoxiacético	1.70g	87.5%	2g	100%
PUNTO DE FUSIÓN				
Ác. $\alpha$ -Naftalenacético	135°C		134.5 – 135.5°C	
Ác. $\beta$ Naftoxiacético	155°C		155.0 – 156.0°C	

### INFRARROJO

NOMBRE	FÓRMULA	VALOR INFORMADO cm <sup>-1</sup>	VALOR OBTENIDO cm <sup>-1</sup>	GRUPO FUNCIONAL
--------	---------	-------------------------------------	------------------------------------	-----------------

Ac. $\alpha$ -Naftalenacético Figs. 1 y 2	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	3059.1	3045.9	(-OH ácido, ancha)
		1694.0	1693.6	( C=O ácido)
		1410 – 1221	1597 – 1264	( Aromático )

Ac. $\beta$ -Naftoxiacético Figs. 3 y 4	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>		3060.0	(-OH ácido, ancha)	
			1739.4	1738.3	( C=O ácido)
			1629.4 – 1249.6	1627.9 – 1249.5	( Aromático )
		1078.4	1076.6	(-C-O-)	

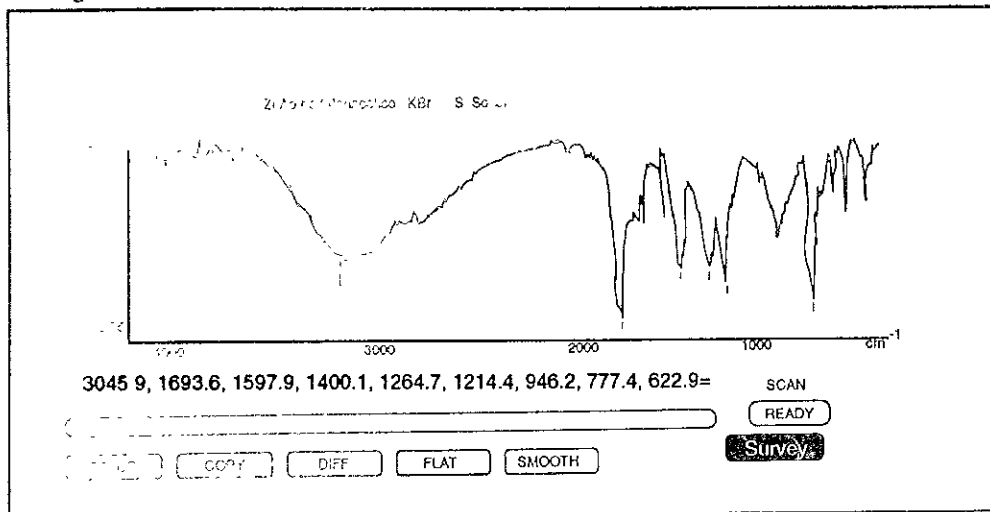
## RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

NOMBRE	FÓRMULA	VALOR INFORMADO $\delta$ (PPM)	VALOR OBTENIDO $\delta$ (PPM)	CARACTERÍSTICAS
Ac. $\alpha$ -Naftalenacético Figs. 5 y 6	$C_{12}H_{10}O_2$	7.2 - 8.1 3.9	7.3 - 8.1 3.9	( m, H-Ar ) ( s, 2H, CH <sub>2</sub> )
Ac. $\beta$ -Naftoxiacético Figs. 7 y 8	$C_{12}H_{10}O_3$	7.1 - 7.8 4.7	7.1 - 7.9 4.7	( m, H-Ar ) ( s, 2H, CH <sub>2</sub> )
$\beta$ -Naftoxiacetato de Metilo Figs. 9 y 10	$C_{13}H_{12}O_3$	6.9 - 7.8 4.6 3.7	6.8 - 7.6 4.5 3.6	( m, H-Ar ) ( s, 2H, CH <sub>2</sub> ) ( s, 3H, CH <sub>3</sub> )
$\alpha$ -Naftalenacetato de Etilo Figs. 11 y 12	$C_{14}H_{14}O_2$	7.5 - 8.0 4.1 4.0 1.2	7.6 - 8.0 4.0 3.8 1.2	( m, H-Ar ) ( s, 2H, CH <sub>2</sub> ) ( c, 2H, CH <sub>2</sub> ) t, ( 3H, CH <sub>3</sub> )
$\alpha$ -Naftalenacetato de Metilo Figs. 13 y 14	$C_{13}H_{12}O_2$	5.1 - 6.8 3.9 3.6	7.3 - 8.1 4.0 3.6	( m, H-Ar ) ( s, 2H, CH <sub>2</sub> ) ( s, 3H, CH <sub>3</sub> )

Los espectros en el Infrarrojo fueron obtenidos en un Espectrofotómetro Perkin Elmer 1600, con transformadas de Fourier (FTIR), empleando el método de pastilla en KBr, la posición de las bandas se describen en  $cm^{-1}$ .

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno, fueron obtenidos en un Espectrómetro Varian A360, empleando como disolvente  $CDCl_3$ ,  $DMSO_d_6$ , y  $D_2O$ . Los desplazamientos químicos se describen en ppm, empleando como referencia TMS.

Fig. No. 1



## INFRARROJO DE ÁCIDO $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO

Fig. 2

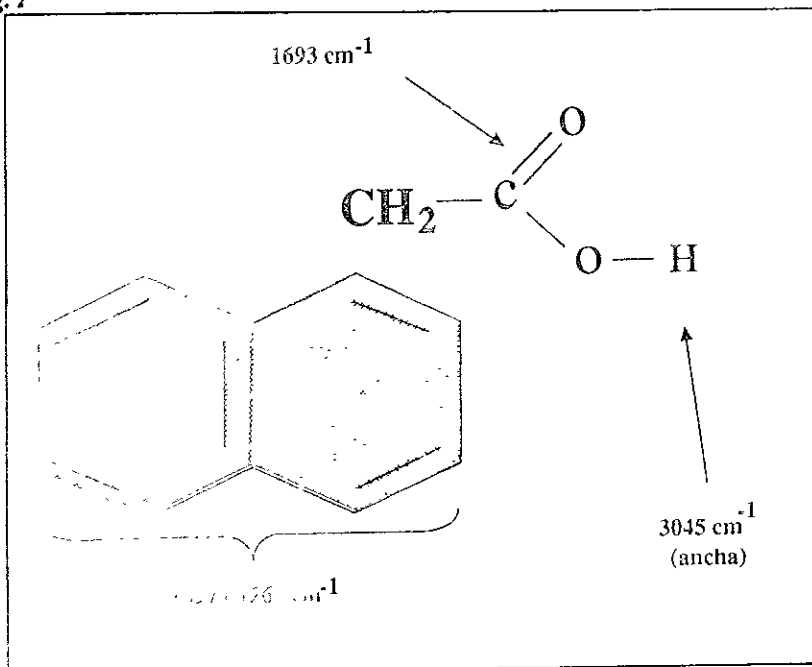
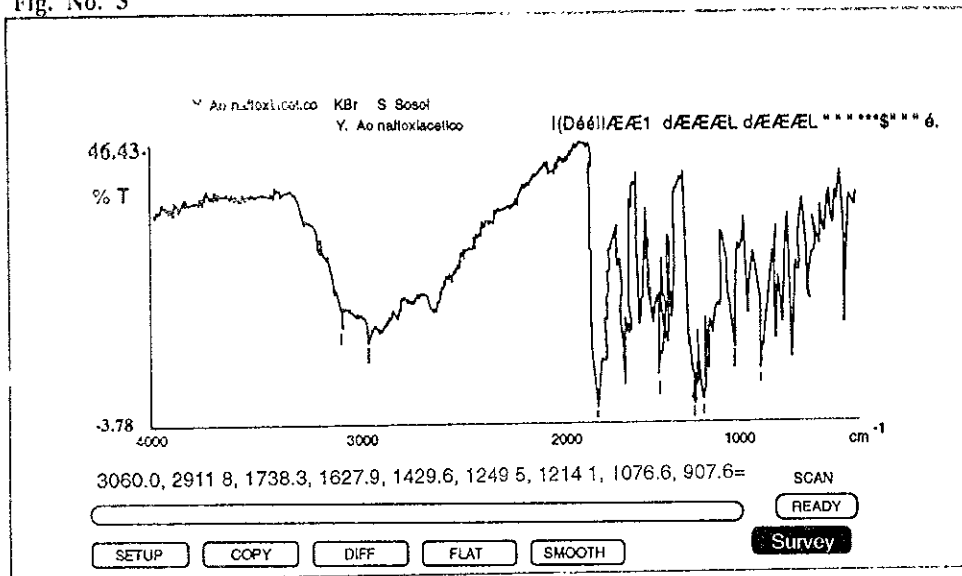


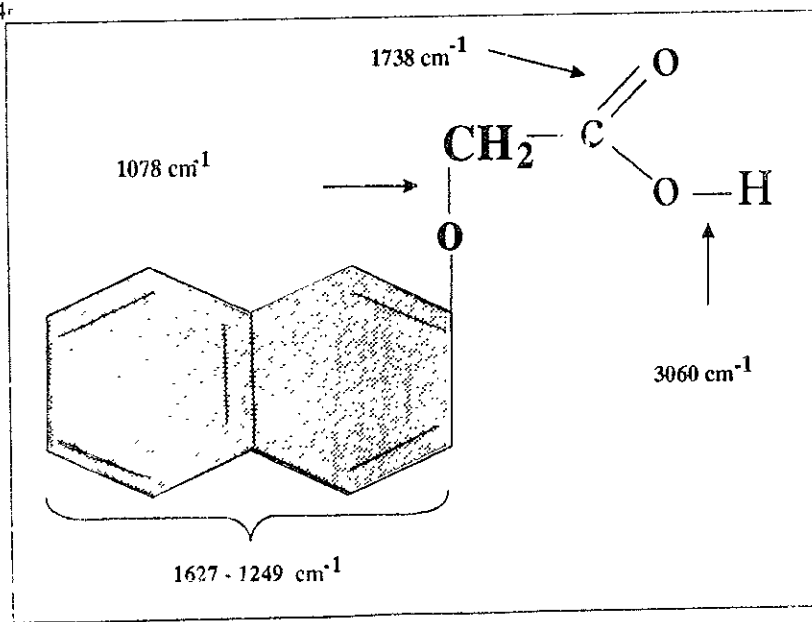


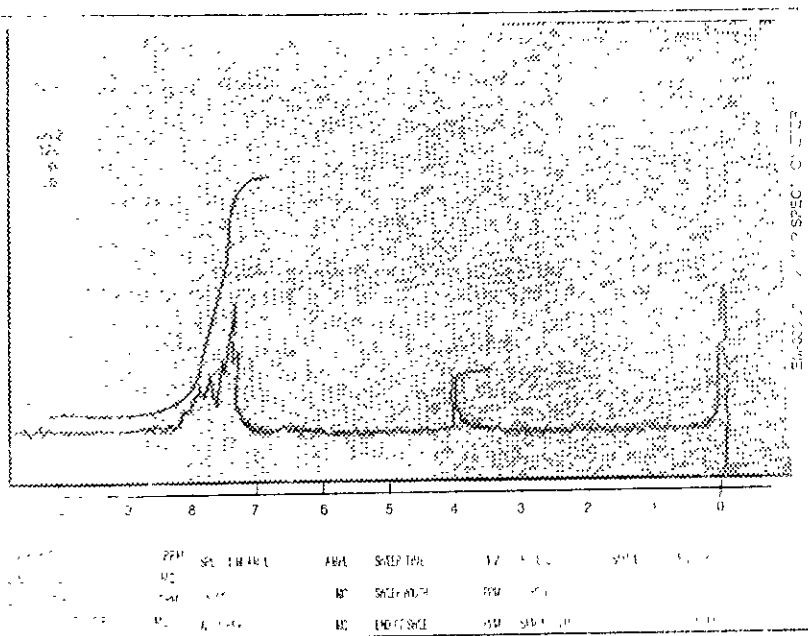
Fig. No. 3



## INFRARROJO DEL ÁCIDO $\beta$ -NAFTOXIACÉTICO

Fig. 4r





### RMN DEL ÁCIDO $\alpha$ -NAFTALENACÉTICO

Fig. 6

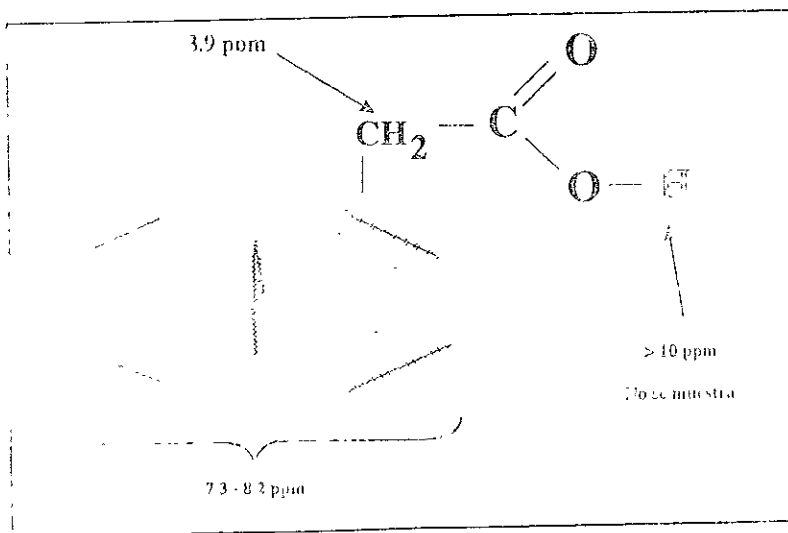
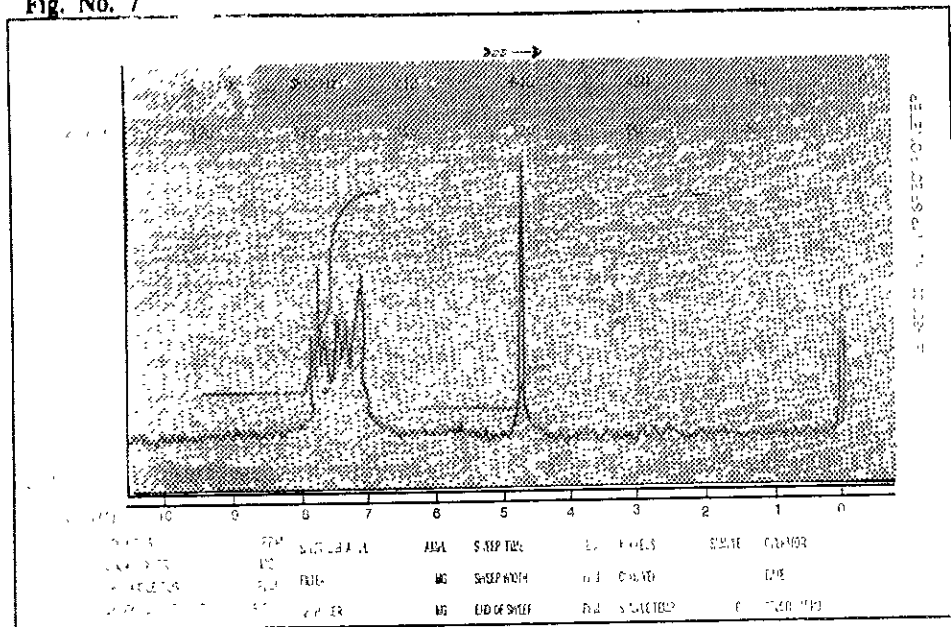


Fig. No. 7



### RMN DEL ÁCIDO β-NAFTOXIACÉTICO

Fig. 8

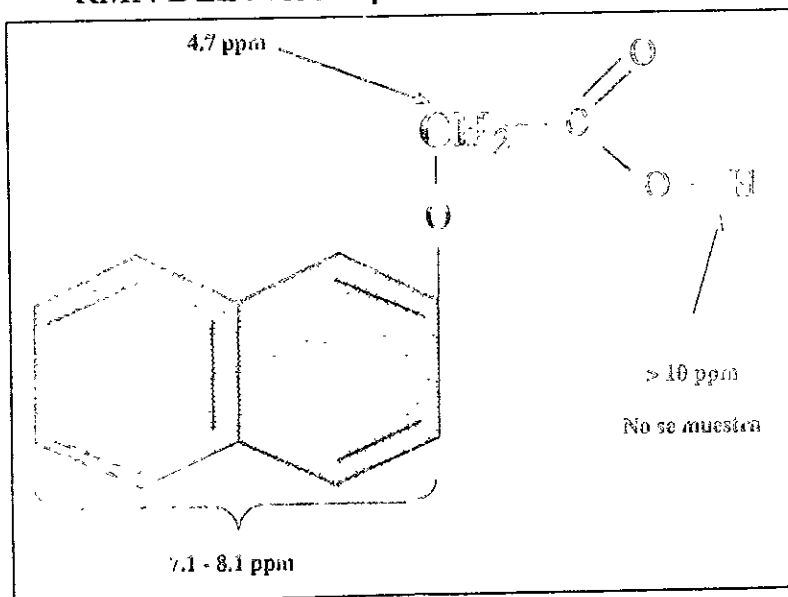
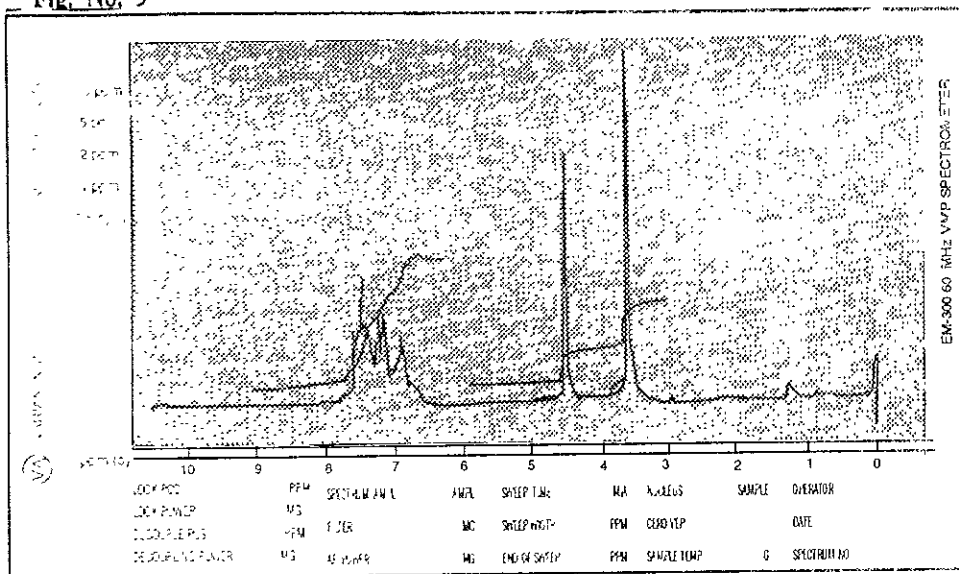


Fig. No. 9



RMN DEL  $\beta$ -NAFTOXIACETATO DE METILO

Fig. 10

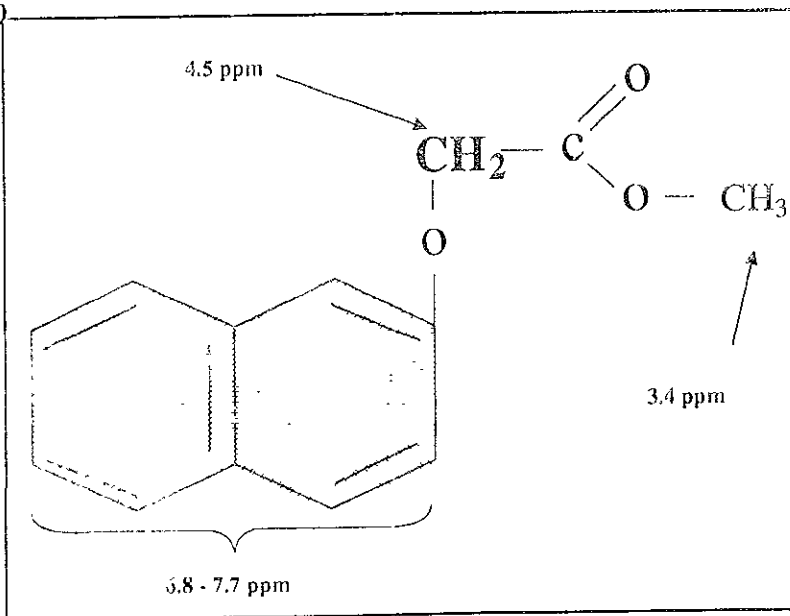
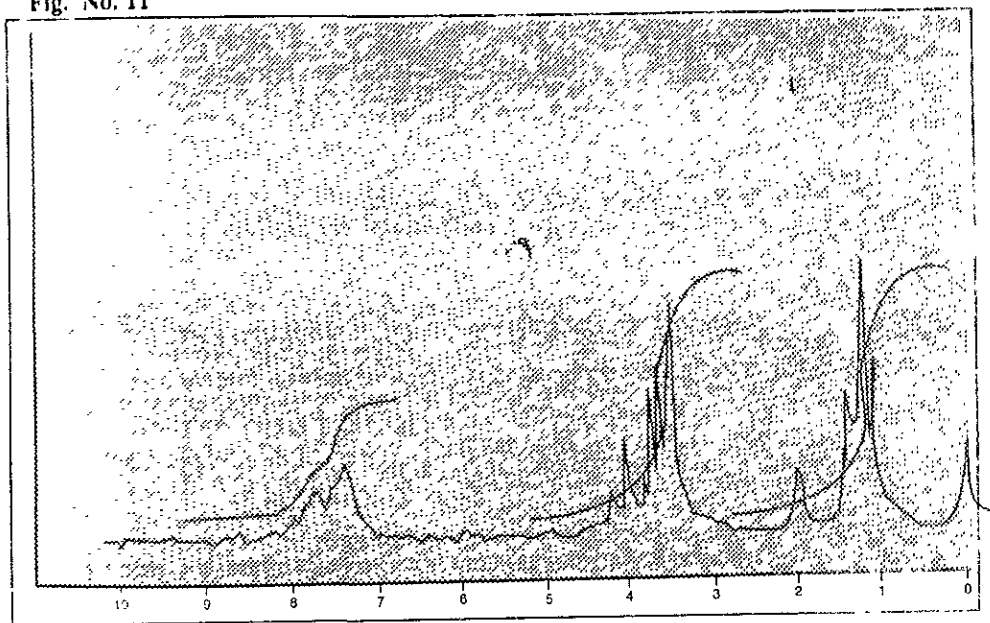


Fig. No. 11



RMN DEL  $\alpha$ -NAFTALENACETATO DE ETILO

Fig. 12

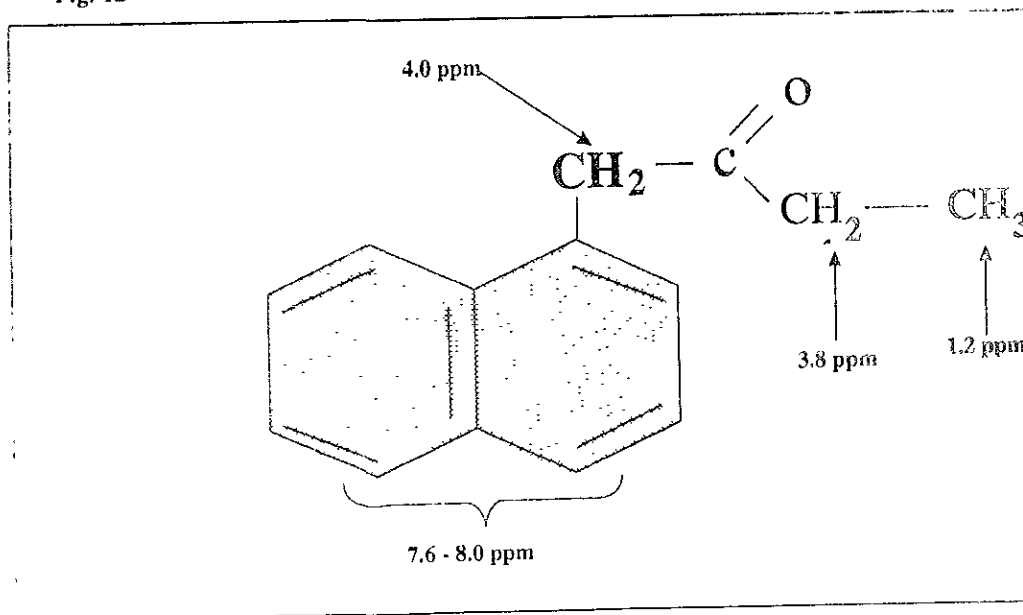
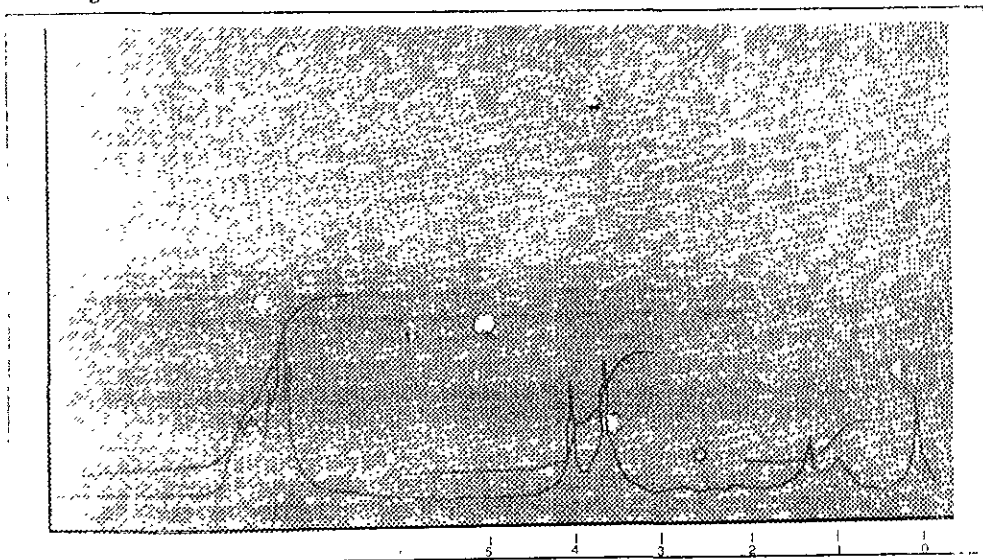
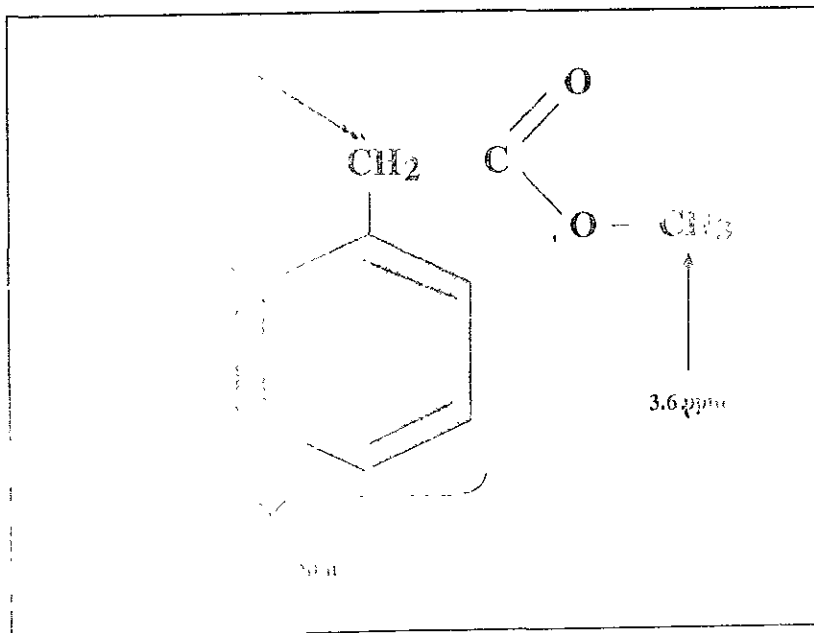


Fig. No. 13



RMN DEL  $\alpha$ -NAFTALENACETATO DE METILO

Fig. 14



## ANÁLISIS DE RESULTADOS

- Los procedimientos en la síntesis de los ácidos  $\alpha$ -naftalenacético y  $\beta$ -naftoxiacético se encuentran reportados en la literatura, (Ogata, Ishiguro, *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 4302 (1950). Y Shirley. *Organic Intermediates* (New York, 1951) p 209), para cada ácido respectivamente, solo que aquí se modificaron los tiempos de reflujo, optimizando el procedimiento.
- Los espectros obtenidos en el presente trabajo son los referidos a las figuras 1, 3, 5, 7, 9, 11 y 13, los cuales, la siguiente figura de ellos (2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14), respectivamente son los datos importantes obtenidos en cada uno de los espectros.
- Para los espectros de las figs. 1 y 3 son del Infrarrojo de los dos ácidos y en cada uno de ellos el grupo funcional (-OH) del ácido carboxílico se encuentra determinado por una banda ancha que es característico de este tipo de grupo funcional.
- Los espectros de las figuras 5 y 7 son de Resonancia Magnética Nuclear de los dos ácidos, y aunque no aparecen en ninguno de los dos ácidos la marca de los hidrógenos de cada uno de los ácidos carboxílicos, si se menciona en las figuras 6 y 8 ya que los espectros fueron tratados con D<sub>2</sub>O.
- En lo que se refiere al aspecto económico, se invirtieron en los siguientes reactivos:

Ácido $\alpha$ -naftalenacético		Ácido $\beta$ -naftoxiacético	
Naftaleno	\$ 0.75	$\beta$ -naftol	\$ 0.70
Ácido cloroacético	\$ 0.18	Ácido cloroacético	\$ 0.18
Bromuro de potasio	\$ 0.09	Bromuro de potasio	\$ 0.09
Trióxido de cromo	\$ <u>0.18</u>	Trióxido de cromo	\$ <u>0.18</u>
Total	\$ 1.20	Total	\$ 1.15

Para obtener finalmente el producto de cada uno de los ácidos en la fase experimental de 1.51g y 1.70 g respectivamente.

- El costo en el mercado de 1g. de ácido  $\alpha$ -naftalenacético es de \$4.33 y para el ácido  $\beta$ -naftoxiacético es de \$3.34; este precio es muy elevado para que los campesinos lo puedan adquirir, por lo que el objetivo de este trabajo de investigación fue reducir los costos para beneficio de la comunidad campesina.
- Otro de los aspectos a considerar es que estos valores son por cada gramo de reactivos y productos, pero hay que considerar que por cada gramo de cada uno de los reactivos utilizados se obtienen por lo menos no un gramo de producto, sino que 1.5 g., por lo que su costo se reduciría aún más.



## CONCLUSIONES

\* El objetivo y la hipótesis de trabajo se logra, al sintetizar las auxinas, de ácido  $\alpha$ -naftalenacético y ácido  $\beta$ -naftoxiacético a partir del naftaleno y  $\beta$ -naftol respectivamente.

\* El rendimiento de estos ácidos en la fase experimental fue de 1.51g y 1.70g tomando como referencia que: teóricamente se deberá obtener 2g de cada uno, es decir que se obtuvo 75% y 87.5%, un rendimiento bastante aceptable.

\* En cuanto a las pruebas físicas, éstas demuestran la pureza de los productos obtenidos, tomando como referencia los valores teóricos. Los espectros de infrarrojo y R.M.N. aportaron datos favorables en cuanto a los productos ácidos que se sintetizaron.

\* Se sabe que las auxinas promueven el alargamiento celular. Al aplicar los ácidos obtenidos a una de dos plantas testigo, se pudo comprobar ese crecimiento celular como se muestra en las fotografías siguientes.

\* Cabe mencionar que este presupuesto solamente es de los reactivos, por lo que es importante considerar la suma de los costos de su producción, como son la mano de obra, gas, electricidad, equipo, entre otros; no obstante, aún así el costo sería mejor que el actual en el mercado de importación; ya que al producirse en mayor cantidad, habría un mayor abatimiento de costos.

## SUGERENCIAS

- Para obtener un rendimiento mayor en la fase experimental, se recomienda variar las condiciones de los tiempos de reflujo utilizando diferentes concentraciones de los reactivos y guiarse por cromatografía de capa fina.
- Se recomienda que se hagan seguimientos de la aplicación de las auxinas con diferentes vegetales con concentraciones diversas. Para este trabajo se hicieron pruebas con árboles frutales obteniendo cambios significativos como son: tamaño del fruto y de las hojas.
- Por referencias bibliográficas, se menciona que el suministro exógeno de las auxinas, como el ácido  $\beta$ -naftoxiacético, promueve el crecimiento de la raíz rota, además esta hormona prevee la caída del fruto prematuramente, se sugiere que se hagan las investigaciones necesarias en posteriores proyectos de investigación.
- Sería favorable realizar estudios sobre el efecto nocivo de las auxinas en concentraciones muy elevadas en las plantas, pues se cree que existe un incremento notable de etileno.
- Por último se sugiere comprobar la efectividad de los ácidos pero en sus derivados del ester.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## CONCLUSIONES

\* El objetivo y la hipótesis de trabajo se logra, al sintetizar las auxinas, de ácido  $\infty$  naftalenacético y ácido  $\beta$ -naftoxiacético a partir del naftaleno y  $\beta$ -naftol respectivamente.

\* El rendimiento de estos ácidos en la fase experimental fue de 1.51g y 1.70g tomando como referencia que: teóricamente se deberá obtener 2g de cada uno, es decir que se obtuvo 75% y 87.5%, un rendimiento bastante aceptable.

\* En cuanto a las pruebas físicas, éstas demuestran la pureza de los productos obtenidos, tomando como referencia los valores teóricos. Los espectros de infrarrojo y R.M.N. aportaron datos favorables en cuanto a los productos ácidos que se sintetizaron

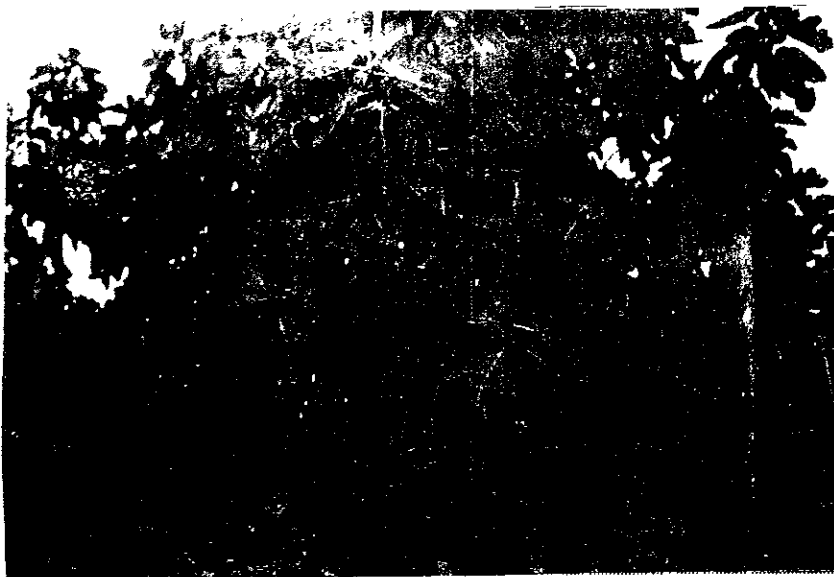
\* Se sabe que las auxinas promueven el alargamiento celular. Al aplicar los ácidos obtenidos a una de dos plantas testigo, se pudo comprobar ese crecimiento celular como se muestra en las fotografías siguientes.

\* Cabe mencionar que este presupuesto solamente es de los reactivos, por lo que es importante considerar la suma de los costos de su producción, como son la mano de obra, gas, electricidad, equipo, entre otros; no obstante, aún así el costo sería mejor que el actual en el mercado de importación; ya que al producirse en mayor cantidad, habría un mayor abatimiento de costos.

## SUGERENCIAS

- Para obtener un rendimiento mayor en la fase experimental, se recomienda variar las condiciones de los tiempos de reflujo utilizando diferentes concentraciones de los reactivos y guiarse por cromatografía de capa fina.
- Se recomienda que se hagan seguimientos de la aplicación de las auxinas con diferentes vegetales con concentraciones diversas. Para este trabajo se hicieron pruebas con árboles frutales obteniendo cambios significativos como son: tamaño del fruto y de las hojas.
- Por referencias bibliográficas, se menciona que el suministro exógeno de las auxinas, como el ácido  $\beta$ -naftoxiacético, promueve el crecimiento de la raíz rota, además esta hormona prevee la caída del fruto prematuramente, se sugiere que se hagan las investigaciones necesarias en posteriores proyectos de investigación.
- Sería favorable realizar estudios sobre el efecto nocivo de las auxinas en concentraciones muy elevadas en las plantas, pues se cree que existe un incremento notable de etileno.
- Por último se sugiere comprobar la efectividad de los ácidos pero en sus derivados del ester.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA



Arriba: planta de breva (higo) que no se le agregaron las auxinas sintetizadas.  
Abajo: planta de breva (higo) que sí se le agregaron las auxinas sintetizadas.  
Ambas plantas tienen la misma edad, tratamientos iguales, se encuentran en la misma huerta a kilómetro y medio de mi localidad y fotografiadas a la misma distancia.



En esta fotografía se nota en la parte izquierda tanto el tamaño de la hoja como del fruto de la planta sin tratamiento de las auxinas. Mientras que del lado derecho se puede observar la hoja y el fruto de la planta que tuvo el tratamiento de las auxinas.

## G L O S A R I O

**ABSCISIÓN:** Separación, cuando se deshace el disceptimento o el estrato que mantenía unidas dos células o dos porciones orgánicas.

**ACRÓPETA:** Dícese de lo que se desarrolla desde la base hacia el ápice; las hojas en el tallo

**APICAL:** Relativo al ápice. Que se halla en él.

**ÁPICE:** Término usual, empleado en botánica, en el sentido corriente en cuanto nos referimos al ápice geométrico.

**ASINCRONÍA:** Se aplica a las plantas, flores, etc. cuyos órganos de la generación androceo y gineceo no llegan a sazón simultáneamente.

**AUXINA:** Sustancia que estimula el alargamiento celular en los vegetales.

**BASIPETO:** Dícese de todo órgano vegetal cuyo desarrollo se realiza a partir del ápice dirigiéndose hacia la base.

**CALLOS:** Expresa diversos tipos de producciones más o menos endurecidas, a veces de tonos claros, como los que se forman en algunas hojas.

**COLEÓPTILOS:** Vaina cerrada del embrión de las gramíneas y de otras monocotiledóneas.

**ENDÓGENA:** Que se forma o engendra en el interior de algo.

**EPICOTILOS:** Dícese del primer internodio que se halla por encima de la inserción de los cotiledones, o, de otra manera el primer entrenudo que forma la plúmula al desarrollarse.

**FOTOTROPISMO:** Fenómenos trópicos en que el factor estimulante es la luz.

**FLOEMA:** Conjunto constituido por los tubos cribosos, las células anexas y las parenquimáticas.

**GEOTROPISMO:** Son todos aquellos fenómenos trópicos en que el factor estimulante es la gravedad.

**HIPOCOTILO:** Dícese del primer internodio que se halla por debajo de la inserción de los cotiledones.

**MERISTEMO:** Tejido de crecimiento de la planta, principalmente en las puntas de los tallos, raíces y todos los órganos en crecimiento.

**MESOCOTILO:** Dícese de la porción caulinar situada entre el hipocótilo y el epicótilo; correspondiente a la región nodal.

**POLISOMÍA:** Fenómeno que consiste en la reduplicación de alguno o de algunos cromosomas de una serie sobrepasando su número diploide normal.

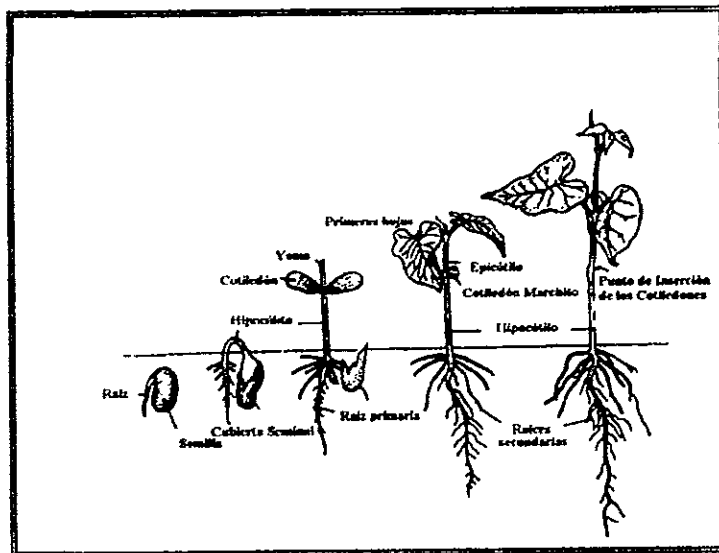
**PROTOPLASTOS:** Es el vocablo para expresar el contenido plasmático total del interior de la célula, con todas sus inclusiones, considerado como unidad biológica fundamental.

**TESTA:** En la semilla, cubierta externa de la misma, que puede corresponder o no a la primina del rudimento seminal.

**TUBÉRCULO:** Porción caulinar engrosada en mayor o menor grado, generalmente subterránea, como la papa.

**TRAQUEIDAS:** Tipo de vaso cerrado, con los tabiques transversales generalmente oblicuos y numerosas punteaduras areoladas.

**TROPISMO:** Todo movimiento de orientación realizado por la planta o por un miembro de la misma ante la influencia unilateral de un factor estimulante.



## BIBLIOGRAFIA

### CITADAS

- 1.- N. Agrios, G.; *Fitopatología*, 2a. ed., México D.F., (1996), 81-86.
- 2.- Mc Laren, J. S.; *Chemical Manipulation of Crop Growth and Development*, Editorial Butterworth Scientific, London (1982), 55-63, 425-427.
- 3.- Mitchell, J. W. y Livingston, G.; *Métodos para el estudio de hormonas vegetales y sustancias reguladoras del crecimiento*, De. Trillas, México (1983), 1-156.
- 4.- Gatehouse, A.M.R., Hilder, V.A. y Boulter, D.; "Plant Genetic Manipulation for crop Protection", C.A.B. *International Biotechnology in Agriculture* No. 7 United Kingdom. 1992. pp. 16-17.
- 5.- Forbes, J.C. y Watson. R.D.; *Plants in Agriculture*, Cambridge University Press. Great Britain., (1992), 186-202.
- 6.- Bessler, B. and K. Zimmer.; *Investigations on development and use of Dodecatheon meadia L. W. Regulation of changes inactivity*. Biological abstracts. Octubre (1994), 98.
- 7.- Grierson, D.; *Plant Genetic Enginecring*, New York (1991), 44, 58, 253.
- 1.- Azaola, E. A. A.; *Papel de los reguladores de crecimiento vegetal en el cultivo in vitro*; Tesis de Licenciatura; UNAM, Facultad de Química, México D. F. (1979).
- 8.- Baker, J. J. W. y Allen, G. E.; *Biología e investigación Científica*, Addison-Wesley, México, D. F. (1986), 101-103.
- 9.- Bhattacharya, K. L. K. S. and N.C. Sharma. *Effect of some growth regulators on callusing in Dalbergia sissoo*. Biological abstracts. Abril (1993), 95.
- 10.- Hakoziaki, M. and Kawsaki; "Effects of auxin on cytokinin on formation of callus and shoot of *in vitro* culturing leaf explant in African violets." *Chemical Abstracts*. Febrero (1994), 120, 73604f.
- 11.- Curry, E. A.; *Auxin analog reduces premature apple abscission without advancing fruit maturity*. Chemical Abstracts. Febrero (1996), 124, 226766v.
- 12.- Toyoda, *et al.*; "Establishment of a system for efficient callus induction and plant regeneration from leaf explants of axillary bud-cultured rose plants." *Chemical abstracts*. Febrero (1994), 120, 99319s.

- 13.- Christiansen, M.N. y Lewis, Ch.; *Mejoramiento de Plantas en ambientes poco favorables*, México D. F., (1987), 362-363.
- 14.- Nesheva, *et al.*; Improving fruit of the cherry by applying growth regulators: Effect on the conditions on the pollination and fructification, *Biological abstracts*, Marzo (1990), 89.
- 15.- Ross, S. D., "Control of sex in potted *Picea engelmanni* grafts by gibberellin A<sub>47</sub> and the auxin, naphthaleneacetic acid." *Biological abstracts*, Oct (1990), 90.
- 16.- Laurain, D., J.-C. Chenieux and J. Tremovillaux- G.; "Somatic embryogenesis from immature zygotic embryos of *Gingko biloba*." *Biological abstracts*, Junio (1996), 101.
- 17.- Knauth, B. and D. Klaemt.; "Is cell elongation regulated by extracellular auxin?" *Biological abstracts*. Agosto (1990), 90.
- 18.- Hartmann, H. y Kester, D.; *Propagación de plantas. Principios y Práctica*, 2a. ed., México D.F., (1995), 287-292.
- 19.- Gautam, V. K., Nanda, K., Gupta, S. C.; "Development of Shoots and roots in anther-derived callus of *Azadirachta indica* A. Juss." *Chemical abstracts*. Marzo (1994), 120, 129644p.
- 20.- Borroto, C. G., Ortega, J.R., Legun, C.; "Efecto del 2,4-D sobre el cuajado de los frutos y redimiento del tomate", *Revista Centro Agrícola, I.S.A*, Hungría (1987), XIV (1), 3-21.
- 21.- Gupta, S. and C.M. Govil.; "Alpha-amylase activity in callus of *Cucumis melo*, L cultivar Pusa Sarbati" *Biological abstracts*. Febrero (1990), 89.
- 22.- Hartmann, H. *et al.*; *Growth, Development, and Utilization of Cultivated plants*, 2a. ed., Prentice Hall, New Jersey, (1988), 133-143.
- 23.- Harrison, M. A., Pickard G.P.B. "Auxin asymetry during gravitropism by tomato hypocotyls." *Departamento de Biología de la Universidad de Washington* Mayo 27 (1988), 652-6.
- 24.- Swiader, J. M., *et al.*; *Producing Vegetable Crops*, 4a ed., Danville, Illinois, (1992), 44-46.
- 25.- Hitsh, J P.; "Investigación de los inhibidores de crecimiento." *Laboratorios biológicos de la Universidad de Harvard, Sociedad Americana en el trabajo del Cancer*. Nueva York, 3-21.
- 26.- Sun, *et al.*; "Agent for fruit production." *Chemical Abstracts*, Enero (1996), 124, 48323p.



- 27.- Kunanuvatchaidach, R., Ian, D. G. and Stephen, W. A.; "High Efficiency plant Regeneration from callus Induced on Mature Indica Rice Caryopses." *Chemical abstracts*, 120, 73604f.
- 28.- Rahman, S. M., M. Hossain., A. K M. Rafial Islam and O. I. Joarder.; "Effects of media composition and culture conditions on *in vitro* rooting of rose." *Biological abstracts*, Junio (1993), 95.
- 29.- Morrison, R. T. T., Boyd, R. N.; *Química Orgánica*, 5ª. ed., Addison-Wesley, México, D.F., (1990), 1149-1153.
- 30.- Shirley.; *Organic Intermediates*. New York (1950), 209.

#### CONSULTADA

- Manzanera, J. A. and J. A. Pados.; "Micropropagation of juvenile and adult *Quercus Subert.*" *Biological abstracts*, Agosto (1990), 90.
- Ogata, I. J.; *Am. Chem. Soc.* (1950), 72, 4302.
- Raman, H. *et al.*; "Regeneration of plantlets from de- embryonated cotyledons of five Citrus species." *Chemical Abstracts*, Mayo (1994). 120, 240303r.
- Southwick *et al.*, *ibid.* 76, 754 (1954).
- Spitzer, *Ber.* 34, 3192 (1901).
- Stolarz, A., Jerzy, M., and Horst, L. "Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf explants of *Nicotiana tabacum L.*" *Biological abstracts*, Mayo (1991), 91.
- Varios Autores.; Las Plantas, Colección de Time Life, 2a. ed., México, D. F., Time Life (1981), 101-103.
- Varios Autores ; "Supplementary alphabetical molecular formula index standard spectra, Infrared collection." *Sastler research Laboratories* (1981 – 1986).
- Wiley, A.; "Applications of plant cell and tissue culture." *John Wiley and Sons Ciba Foundation Symposium*. New York (1988), 137, 90-91.
- Wilson, C. L. y Loomis, W. E.; *Botánica*, 4a. ed., México, D.F. (1992), 317-319.
- Windholz, M. *et al.*; *The Merck Index*, 11a ed., Merck & co. Inc., Rahhway, N. J., (1989), 326. 1008.