

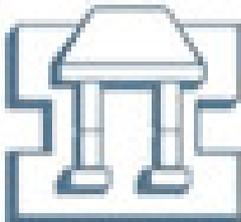


# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**“EVALUACIÓN DE LOS REGULADORES AUXÍNICOS AIA, AIB  
Y p-NITROFENIL-INDOL- 3-ACETATO EN LA RIZOGÉNESIS DE  
*Prosopis laevigata*, *Cercidium praecox* Y *Mimosa luisana*  
DE ZAPOTITLÁN SALINAS, PUEBLA”**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :**  
**B Í O L O G O**  
**P R E S E N T A :**  
**MEZTLI TLANEZI OLVERA HERNÁNDEZ**



**I Z T A C A L A**

**DIRECTOR:**  
**BIOL. RAFAEL EMILIANO QUINTANAR ZÚÑIGA**

**LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO,**

**2006**



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.

***Dedicada a:***

*Mis padres: por permitirme conocer la alegría de tener una familia, de conocer el apoyo incondicional que solo un padre y una madre pueden brindar, por ser mi guía y mi buen ejemplo a seguir, por confiar siempre en mí, por preocuparse por mí; pero sobre todo, por estar a mi lado en cada paso de mi vida, por ser mi alegría y aliciente para seguir adelante y porque gracias a ustedes he llegado a esta meta. Los amo.*

*A mis hermanos: Tlalli, Luis y Wendoline, por estar a mi lado en todo momento, por ser mi apoyo, por darme esos ánimos en los momentos difíciles, por confiar en mi, por ser mi estímulo para seguir adelante, por ser una de las más grandes alegrías de mi vida.....Los amo.*

*A mi tía Juana: por ser otra madre para mí, por brindarme todo su apoyo y su cariño, por ayudarnos incondicionalmente en todos nuestros momentos difíciles, porque formas parte importante de mi vida, y por que sin tu apoyo, esta meta hubiera sido más difícil de conseguir. A ti de corazón.*

## **Agradecimientos:**

A mi asesor, el Biol. Rafael Emiliano Quintanar Zúñiga, por guiarme en la realización de este trabajo, por sus atenciones hacia mí, por hacer las jornadas de trabajo más amenas a través de ese humor tan característico, por aquellos momentos tan inigualables durante las prácticas de campo, que no serían las mismas sin usted; gracias por hacerme reír.....

A la M. en C. Josefina Vázquez Medrano, por su apoyo y cortesía desde el primer momento, por su asesoría tan dedicada durante todo este trabajo, por su entrega, su confianza, por siempre creer en mi y brindarme toda su ayuda incondicional, porque no olvidare su amabilidad, atención y dedicación, sobre todo al término de este trabajo; no acabaría de enlistar todo lo que ha hecho usted por mi....gracias por todo.

A la M. en C. Martha Urzúa y a la Biol. Margarita Moreno, por su gran apoyo durante la elaboración de este trabajo, por preocuparse por la superación de los alumnos, por su iniciativa y disponibilidad para ayudar, por hacer del laboratorio un lugar de trabajo cordial y agradable.

Al Biol. Luis Barbo Hernández Portilla, por su disponibilidad, apoyo y atención durante este trabajo, por su favor de revisarlo tan minuciosamente y por aquellas asesorías tan ilustrativas...

Al Biol. Cesar Ordóñez por su ayuda durante las prácticas de campo y por ese buen humor.

A todos ustedes, por esmerarse en brindar un ambiente de cordialidad, confianza, estímulo, superación, apoyo y alegría, no solo en el lugar de trabajo, si no en todo momento.

Al Dr. Cesar M. Flores Ortiz por brindar el apoyo y buscar el buen desempeño y superación de los estudiantes, como parte del equipo del laboratorio.

A todos y cada uno de mis sinodales, al M. en C. Alberto Arraiga Frías, por sus atinadas observaciones y recomendaciones, por su gran atención y amabilidad hacia mí, al M. en C. Gerardo Ortiz Montiel por su amabilidad, honestidad y buena crítica; al M. en C. Manuel Mandujano Piña por su atención y cortesía, y por sus observaciones; y al M. en C. Ernesto Aguirre León por su gran amabilidad y atención.

Al Dr. Héctor O. Godínez Álvarez por su apoyo en la realización de los análisis estadísticos de este trabajo de una manera atenta y amable; y por brindarme un espacio de su tiempo.

A la Biol. Adelaida por su ayuda y colaboración, por su amable atención.

A mis amigos:

Yola, como olvidar esas largas jornadas de trabajo que pasamos juntas, ayudándonos una a la otra, por tu apoyo, pero sobre todo, tu amistad y confianza.

Mi niña Hyrais, y la señorita Marleth, que hubiera sido de mi sin ustedes, gracias por acompañarme en las largas jornadas, gracias por darme esos ánimos para seguir adelante, por ser mi apoyo durante la realización de éste trabajo, por esas palabras de aliento, y por creer y confiar en mí....,saben que me hubiera sido muy difícil llegar hasta aquí si no hubiera contado con su apoyo, sobre todo al final de esta etapa, porque con ustedes cuento con la ternura y la prudencia, gracias por ser mis amigas.

Moy, por estar a mi lado, por ser mi amigo, por hacerme reír, por hacer notar mis errores, por brindarme tu apoyo y tu confianza en todo momento, por preocuparte por mi y por hacerme sentir

bien en esos momentos de crisis..., pero sobre todo por demostrarme que la amistad se da a pesar de los malos momentos.

Al Doc. Felipe, por esas palabras que me hicieron reflexionar, por estar en ese momento en el cual quería dejar todo, por creer en mi capacidad y en mis cualidades, por hacerme ver que solo uno puede salir de sus problemas, por esas grandes charlas, por preocuparte por mi y hacerme saber que a pesar de la distancia se que puedo contar contigo, por tu confianza y por tu apoyo, gracias por ser mi amigo.

Jahir, Kary, Reynita y Arturo como olvidarme de ustedes, Jahir por tu poyo incondicional, por preocuparte por mi y por tu confianza; Kary, amigocha, que sería de las personas si no pudieran desahogarse con alguien, por ser mi pañuelo de lágrimas, por todo ese cariño, por el apoyo, pero sobre todo por tu confianza; Reynita por ser mi amiga y compartir conmigo aquellos buenos y malos ratos; Arturo amigo mío, porque contigo aprendí lo que es escuchar y me di cuenta de muchas cosas de la vida a tu lado.

Un agradecimiento a la Dirección General de Asuntos del Personal Académico a través del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), al proyecto "Conservación de semillas de cactáceas columnares del Valle de Tehuacán-Cuicatlán", con el número de Proyecto IN201405, por el apoyo otorgado para llevar a cabo este trabajo.

# ÍNDICE

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| <b>1.0 Resumen</b>                 | 1  |
| <b>2.0 Introducción</b>            | 2  |
| 2.1 Propagación vegetativa         | 2  |
| 2.2 Raíces adventicias             | 3  |
| 2.3 Acodos                         | 4  |
| 2.4 Auxinas                        | 5  |
| 2.5 Síntesis de AIA                | 8  |
| 2.6 La conjugación del AIA         | 10 |
| 2.7 Degradación del AIA            | 11 |
| 2.8 Transporte                     | 13 |
| 2.9 Mecanismo de acción            | 15 |
| 2.10 Deterioro ambiental           | 17 |
| <b>3.0 Justificación</b>           | 18 |
| <b>4.0 Especies de estudio</b>     | 19 |
| 4.1 <i>Cercidium praecox</i>       | 19 |
| 4.2 <i>Mimosa luisana</i>          | 20 |
| 4.3 <i>Prosopis laevigata</i>      | 21 |
| <b>5.0 Antecedentes</b>            | 24 |
| <b>6.0 Hipótesis</b>               | 28 |
| <b>7.0 Objetivos</b>               | 28 |
| 7.1 Objetivo General               | 28 |
| 7.2 Objetivos Particulares         | 28 |
| <b>8.0 Área de estudio</b>         | 29 |
| <b>9.0 Materiales y métodos</b>    | 30 |
| 9.1 Obtención del material vegetal | 30 |
| 9.2 Aplicación de hormonas         | 30 |

|  |           |
|--|-----------|
| 9.3 Acodos   | 32        |
| 9.4 Cuantificación de AIAoxidasa por polarografía                | 32        |
| 9.5 Cuantificación de AIA por HPLC                               | 33        |
| 9.6 Electroforesis en geles de poliacrilamida                    | 33        |
| 9.7 Aplicación del análisis estadístico                          | 34        |
| <b>10.0 Resultados</b>   | <b>35</b> |
| 10.1 Porcentaje de enraizamiento                                 | 35        |
| 10.2 Formación de raíces adventicias                             | 41        |
| 10.3 Actividad enzimática  | 42        |
| 10.4 Concentración de AIA endógeno                               | 43        |
| 10.5 Expresión de peroxidasas y AIAoxidadas                      | 46        |
| 10.6 Acodos  | 48        |
| 10.7 Afinidad de la AIAoxidasa                                   | 48        |
| <b>11.0 Discusión</b>  | <b>50</b> |
| <b>12.0 Conclusiones</b>   | <b>56</b> |
| <b>13.0 Perspectivas</b>   | <b>57</b> |
| <b>14.0 Bibliografía</b>   | <b>58</b> |
| <b>Apéndice</b>  | <b>62</b> |
| I Comparación de proporciones mediante una tabla de contingencia | 62        |
| II ANOVA de dos vías no paramétrico                              | 66        |
| <b>Anexo</b>   | <b>73</b> |

## 1.0 RESUMEN

La participación de auxinas en la inducción de raíces adventicias en plantas leñosas ha sido poco estudiada. Aquí se evaluaron tres auxinas AIA, AIB y *p*-nitrofenil indol-3-acetato (*p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA) en la rizogénesis de tres especies leñosas nodrizas de cactáceas de Zapotitlán Salinas, Puebla. Se colocaron esquejes en grupos con AIA, AIB y *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA; a 100, 200 y 500 ppm, y un grupo control; además se probaron dos tipos de aplicación de los tratamientos: talco y solución. Los esquejes se mantuvieron en peat-moss, tierra negra y agrolita, a 28° C y HR del 70%. Posteriormente se cuantificó la actividad de la AIAoxidasa por polarografía, se registró el porcentaje de enraizamiento, y cuantificó el AIA endógeno. Los resultados mostraron que se alcanzaron los mayores porcentajes de enraizamiento con AIB<sub>100ppm</sub> (80%) en *Prosopis laevigata*, un 36% con *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA<sub>100ppm</sub> en *Mimosa luisana* y un 54% con AIA<sub>500ppm</sub> en *Cercidium praecox*. La mayor actividad enzimática de AIAoxidasa se observó en *Mimosa luisana* (3659.259 ηmoles de O<sub>2</sub>/mg min) y los más bajos en *Prosopis laevigata* (350.659 ηmoles de O<sub>2</sub>/mg min), en los grupos control. Solo se encontraron diferencias significativas, en *Cercidium praecox*, en el modo de aplicación de los tratamientos, aunque los mayores porcentajes de enraizamiento se obtuvieron con las aplicaciones en talco, para las tres especies. Los resultados de actividad enzimática no muestran diferencias significativas entre tratamientos, concentración, especies y aplicaciones. En la cuantificación de AIA endógeno, se encontró que *Prosopis laevigata* es la especie con mayor concentración de AIA endógeno basal (2.8262 μM/grpf). Por lo anterior, podemos concluir que el mayor efecto en la producción de raíces adventicias por AIB, en *Prosopis laevigata*, se debe a que la AIAoxidasa presenta menos afinidad por este substrato y, por lo tanto, permanece más tiempo en la planta y así potencia su acción rizogénica. Por otro lado, la baja capacidad de enraizamiento de *Mimosa luisana* puede estar relacionada con la actividad incrementada de la AIAoxidasa que degrada la auxina impidiendo alcanzar el umbral que induce la rizogénesis.

## **2.0 INTRODUCCIÓN**

### **2.1 Propagación Vegetativa**

La propagación consiste en multiplicar el número de individuos de un organismo a través del control y manejo de diferentes variables. La propagación en las plantas se puede llevar a cabo mediante su multiplicación por dos vías: por medio de propagación vegetativa (también llamada asexual o clonación) y de manera generativa (llamada sexual, o por semilla). Ambos tipos de propagación pueden presentar problemas para su realización. Cuando la multiplicación sexual no es satisfactoria (no se forman semillas, se forman muy pocas, son poco viables o el organismo es altamente heterocigoto) se suele buscar la multiplicación vegetativa (Pierick 1990).

La propagación asexual consiste en la reproducción de individuos a partir de porciones vegetativas de las plantas y es posible, porque en muchas de éstas los órganos vegetativos tienen capacidad de regeneración. Este tipo de propagación se lleva a cabo a través de esquejes (estacas), división, acodo y distintos tipos de injerto.

Se pueden tener plantas nuevas partiendo de una sola célula; ya que cualquier célula viva de una planta tiene toda la información genética necesaria para regenerar el organismo completo, sin embargo existen zonas más propicias para funcionar como explantes (Hartman y Kester 1986).

Una de las principales razones por la que se usa la propagación vegetativa es que a través de ella se obtienen clones. Esa propagación implica la división mitótica de las células en la cual, hay una duplicación íntegra del sistema cromosómico del citoplasma asociada de la célula progenitora, para formar dos células hijas. En consecuencia, las plantas propagadas vegetativamente reproducen, por medio de la replicación del DNA, toda la información genética de la planta progenitora (Hartman y Kester 1986); cabe mencionar que un clon puede definirse como material genéticamente uniforme derivado de un solo individuo y que se propaga de modo exclusivo por medios vegetativos.

La propagación vegetativa ha tenido un papel muy importante durante muchos años en la agricultura, el comercio y el ámbito científico, ya que permite la creación de modelos experimentales en estudios del desarrollo (Cabañas 1999), así como la mejora vegetal. El proceso de reproducción asexual tiene importancia especial en horticultura porque la composición genética (genotipo) de la mayoría de los cultivos de frutales y de las plantas ornamentales más valiosas, es sumamente heterocigota y las características que distinguen a esos tipos se pierden de inmediato al propagarlos con semillas (Hartman y Kester 1986).

La propagación por estacas se puede realizar a través de estacas de tallo, estacas con yema y hoja, raíces de estaca y estacas de hoja. En la propagación por estacas de tallo y estacas con yema y hoja, solo es necesario que forme un nuevo sistema radical, puesto que ya existe un sistema de ramas o de tallo en potencia (una yema) (Hartman y Kester 1986). Aún en plantas maduras, muchas células tienen la capacidad de retornar a la condición meristemática (desdiferenciación) y

de producir nuevos sistema de raíz o de tallo o de ambos. Este hecho hace posible la propagación vegetativa por estacas. La propagación por estacas, de ordinario se emplea en plantas dicotiledóneas, pero en condiciones apropiadas es posible hacer enraizar estacas de algunas monocotiledóneas.

## **2.2 Raíces adventicias**

Como ya se mencionó anteriormente, en las estacas de tallo solo se necesita que se forme un sistema radical; en este sentido, el tipo de raíces que se forman son las llamadas raíces adventicias. Las raíces adventicias reciben este nombre debido a que pueden formarse en lugares ajenos a la raíz primaria; cabe señalar, que éstas tienen la misma función fisiológica que las demás raíces aun cuando difieren en origen (Peñalosa 1998). El estímulo para la iniciación de la respuesta rizogénica puede variar entre especies de plantas, edades y otras condiciones. El daño mecánico, la sección de partes de una planta, el contacto con el suelo, son algunos de los factores más importantes que desencadenan esta respuesta (Weaver, 1972; citado en Peñalosa 1998). La regeneración de raíces o la formación de raíces adventicias en segmentos de tallo u hoja comprende cuatro etapas principales: 1) Desdiferenciación de un nuevo locus meristemático. 2) División celular temprana, que conduce a la formación de agrupaciones celulares sin polaridad y radialmente simétricas, las células aún no están determinadas; 3) División celular tardía que conduce a la formación de un meristemo organizado y determinado hacia la formación de raíces, con simetría bilateral (primordios de raíz) y 4) Formación de la raíz por crecimiento en extensión de la células producidas por el meristemo (Peñalosa, 1998).

La ubicación precisa dentro del tallo del sitio en que se inician las raíces adventicias ha intrigado a los anatomistas vegetales durante siglos. A este respecto, se menciona que las raíces adventicias pueden desarrollarse a partir de raíces grandes, a partir del hipocotilo de plantas jóvenes, a partir del cuerpo primario y secundario de los tallos y de las hojas. En las raíces y en los tallos de la mayoría de las plantas, las raíces adventicias se desarrollan endogenamente (se originan dentro del tejido del tallo y crecen hacia fuera), pero existen ejemplos en donde el desarrollo es exógeno. Los primordios de las raíces adventicias pueden formarse en los siguientes tejidos: la epidermis, junto con el tejido cortical, de yemas e hipocotilos; el periciclo del tallo, el parénquima de los radios entre el periciclo y el cambium, el parénquima de las radios floemáticos, el floema secundario no diferenciado y cambium situado entre los haces vasculares, el cambium interfascicular, periciclo y floema, la médula del tallo, interrupciones parenquimáticas de intersticios foliares o yemas; tejidos de células márgenes foliares y pecíolos (Fahn 1982). El origen las raíces adventicias en las estacas de tallo se encuentran en ciertos grupos de células que se vuelven meristemáticas. Los tejidos contenidos en el sitio de origen varían mucho, dependiendo de la clase de planta. En plantas leñosas perennes, donde hay una o más capas de xilema y floema secundarios, las raíces

adventicias en sus estacas de tallo, por lo común se originan en el floema secundario joven, aunque también pueden originarse de otros tejidos, tales como el cambium o la médula (Hartman y Kester 1986).

La incapacidad para inducir la formación de raíces adventicias, es a menudo, factor limitante para la clonación cuando se usan estacas o cultivo de tejidos de especies leñosas en las que la maduración frecuentemente va acompañada de una reducida capacidad de enraizamiento. En algunas especies, la habilidad para formar raíces está ausente en la fase de maduración, esto ha afectado grandemente la explotación genética de plantas leñosas hortícolas, forestales y silvestres (Haissig *et al.* 1992)

### **2.3 Acodos**

El acodado es otro método de propagación vegetativa, en el cual se provoca la formación de raíces adventicias a un tallo que está todavía adherido a la planta madre. Así, el tallo enraizado acodado, se separa para convertirlo en una nueva planta que crece sobre sus propias raíces. La rama acodada sigue recibiendo agua y minerales debido a que no se corta el tallo y el xilema permanece intacto. En consecuencia, el acodado no depende del periodo de tiempo que una rama separada (estaca) puede mantenerse antes de que se efectúe el enraizado. Esta es una de las razones importantes por qué en muchas plantas se tiene más éxito al propagarlas por acodos que por estacas.

Durante el acodado la formación de la raíz se estimula por varios tratamientos aplicados al tallo que ocasionan una interrupción de la translocación hacia abajo de materiales orgánicos, carbohidratos, auxina y otros factores de crecimiento, de las hojas y de las puntas de las ramas en crecimiento. Esos materiales se acumulan cerca del punto de tratamiento y se efectúa enraizado en esa zona general aun cuando la rama está todavía unida a la planta madre. La aplicación de sustancias estimuladoras del enraizamiento, como el ácido indolbutírico, durante el acodado es a veces benéfico al igual que en las estacas, aunque el método de aplicación es algo diferente pudiendo utilizarse de manera efectiva, aplicándolas a los cortes de anillado ya sea en polvo, en lanolina o en una disolución de alcohol al 50% (Hartman y Kester 1986). La formación de raíces en los acodos depende de la provisión continua de humedad, buena aireación y temperaturas moderadas en la zona de enraizamiento. En las clases de planta en que el acodado ocurre naturalmente, constituye un método de propagación sencillo y económico. En algunos casos se puede producir una planta más grande en un tiempo más corto que si se hiciera por estaca.

En acodo aéreo las raíces se forman en la parte aérea de la planta en donde el tallo se ha anillado o se le ha hecho un corte angosto inclinado hacia arriba. La porción lesionada se envuelve en el punto de la herida con un medio de enraíza que se mantiene húmedo de continuo. En algunas

plantas el enraizado se efectúa en dos o tres meses o menos. En general, es conveniente remover el acodo para su trasplante cuando no este en crecimiento activo.

Para el proceso de la formación de raíces, su crecimiento y otros procesos fisiológicos de las plantas se encuentran regulados por hormonas vegetales o fitohormonas, que son un grupo de sustancias orgánicas, sintetizadas por las plantas, que tienen la capacidad de afectar a los procesos fisiológicos en concentraciones mucho más bajas que los nutrientes y que las vitaminas ( $< 1\text{mM}$ , frecuentemente  $< 1\mu\text{M}$ ). El control de la respuesta hormonal se lleva a cabo, por lo tanto, a través de cambios en la concentración y la sensibilidad de los tejidos a las hormonas. No obstante, en determinadas situaciones, uno de los factores puede dominar o excluir al otro (Azcón-Bieto y Talón 2000). Además; también es importante mencionar, que son activas tanto en su lugar de origen como en otros sitios de las plantas. Existen cinco fitohormonas clásicas conocidas: las auxinas, las giberelinas, las citoquininas, el ácido abscísico y el etileno. En los últimos años, sin embargo, se han aislado una serie de sustancias que también pueden clasificarse como hormonas basándose en sus efectos sobre el desarrollo o el fenotipo con mutantes con defectos en su síntesis o percepción. En este nuevo grupo de hormonas se incluyen: brasinosteroides, jasmonatos, poliaminas y salicilatos (Azcón-Bieto y Talón 2000, Kozłowski y Pallardy 1997).

En las plantas, ninguna hormona tiene el control exclusivo de un determinado proceso fisiológico. El control hormonal del desarrollo debe contemplarse desde la perspectiva de una interacción, positiva o negativa, entre los diferentes tipos de hormonas. De los diferentes grupos de hormonas, las auxinas han sido las más estudiadas en cuanto a su función en la rizogénesis de raíces adventicias en las estacas.

## 2.4 Auxinas

Las auxinas fueron descubiertas por el desarrollo de trabajos realizados por diferentes investigadores en un largo periodo de tiempo. Empezando por Julius von Sachs, a finales del siglo XIX, en Alemania, con su postulado de sustancias que se mueven a través de la planta y que determinan la forma definitiva de cada órgano. Por las mismas fechas (1880) Charles Darwin, en Inglaterra, se interesaba en la capacidad de movimiento que poseen las plantas (con relación al fototropismo). Posteriormente, A. Paál consiguió provocar la curvatura en un coleóptilo decapitado tras restituir el ápice. Todas esas observaciones previas llevaron a Fritz Went a elaborar en 1928 el primer bioensayo que permitiría establecer una relación entre la cantidad de estímulo aplicado y la respuesta fisiológica observada. Tras varios intentos, entre 1934 y 1935, dos grupos (Kögl, Haagen-Smit y Erxleben, partiendo de orina humana, y K.V. Timann, usando extractos de cultivos del hongo *Rhizopus suinus*) consiguieron obtener una sustancia a la que se denominó **auxina** (del griego: hacer crecer, incrementar) y cuya estructura química resultó ser la del ácido indolacético (AIA) (Azcón-Bieto y Talón 2000, Kozłowski y Pallardy 1997, Salisbury y Ross 1994).

Una auxina usualmente esta definida como una sustancia que en bajas concentraciones ( $10^{-5}$  M) estimula la elongación de coleótilos decapitados o segmentos de epicótilos de guisantes (Kozłowski y Pallardy 1997). Una auxina generalmente posee una estructura con una carga negativa en el carboxilo separada de otra carga residual positiva. Esta ultima puede estar localizada sobre un anillo indólico o aromático, como en el AIA o el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), respectivamente. (Azcón-Bieto y Talón 2000).

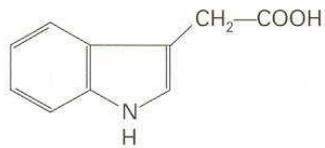
Modificaciones en el anillo bencénico, en la cadena lateral, y en la porción de la molécula enlazadora han producido varias auxinas análogas que tienen aplicaciones prácticas importantes en agricultura, horticultura y forestería (Kozłowski y Pallardy 1997).

Las auxinas son hormonas que se sintetizan en los ápices de los tallos y raíces; de donde migran a la zona de elongación y a otras zonas donde ejercerán su acción. Regulan el inicio y la promoción de la división celular, la dominancia apical (en plantas intactas solo crece la yema apical), la caída de hojas y frutos, la formación y crecimiento de raíces (Fernández y Myrna 1986). También se menciona que los lugares más importantes de biosíntesis son los ápices de los coleótilos, los tallos y las hojas jóvenes, el cambium y las semillas en desarrollo (Azcón-Bieto y Talón 2000).

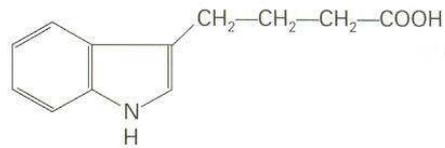
(Por otra parte, las plantas contienen otros tres compuestos que son estructuralmente similares al AIA y provocan muchas de las mismas respuestas que éste; se les debe considerar hormonas auxínicas. Entre estas se pueden mencionar el ácido 4-cloro-indolacético (4-cloroAIA), el ácido fenilacético (APA) y el ácido indolbutírico (AIB), esta última de más reciente descubrimiento (Salisbury 1994); y que se ha comprobado que es un compuesto endógeno en una variedad de especies de plantas (Ludwig-Müller 2000). Existen; además, otros compuestos sintéticos que producen efectos en las plantas similares a los producidos naturalmente por las auxinas. De ellos al ácido  $\alpha$ -naftalenacético (ANA), el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y el ácido 2-metil-4clorofenoxiacético (MCPA) son de los que mejor se conocen. Otros autores mencionan además derivados de los ácidos benzóico y picolínico (Fig. 1) (Azcón-Bieto y Talón 2000). Debe mencionarse que como estos compuestos no son sintetizados por las plantas, no son hormonas. Se les clasifica como reguladores de crecimiento vegetal.

Para un determinado órgano, la intensidad de la respuesta a la auxina depende de su concentración, lo cual pone de manifiesto la importancia que tiene para la planta la existencia de mecanismos que regulen de forma eficaz la concentración de hormona. En la Figura 2 se muestran los diferentes procesos que pueden modificar la concentración de AIA en un determinado órgano o tejido. La velocidad de la biosíntesis, conjugación, hidrólisis de conjugados y oxidación (descarboxilativa y no descarboxilativa), así como la intensidad del transporte de llegada y de salida son factores decisivos en la regulación de la concentración local de auxina.

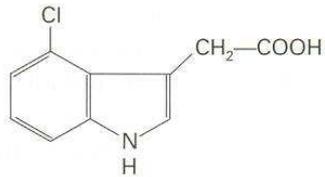
### Auxinas naturales



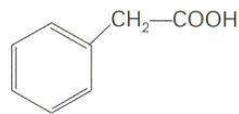
Ácido indolacético (AIA)



Ácido indolbutírico (IBA)

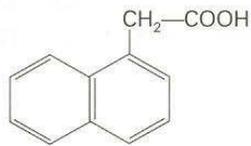


Ácido 4-cloro-indolacético

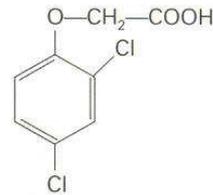


Ácido fenilacético

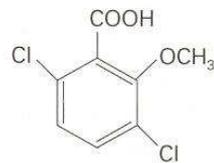
### Auxinas sintéticas



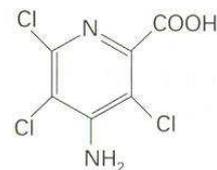
Ácido  $\alpha$ -naftalenacético (NAA)



Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)

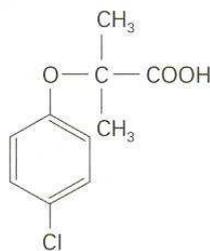


Ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzoico



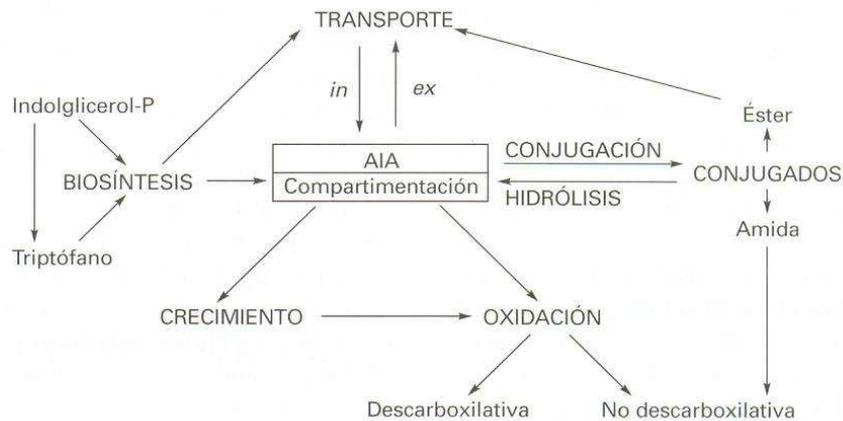
Ácido 4-amino-3,5,6-tricloro picolínico

### Antiauxina



Ácido  $\alpha$ -(p-clorofenoxi)-isobutírico

**Figura 1.-** Estructuras químicas correspondientes a algunas auxinas naturales y sintéticas típicas. La antiauxina tiene analogía estructural con las auxinas, pero contrarresta su acción fisiológica (tomado de Azcón-Bieto y Talón 2000).



**Figura 2.-** Regulación de la concentración de AIA. Los procesos que favorecen la acumulación de AIA en un tejido u órgano son: la biosíntesis in situ, el transporte de llegada (importación, in) y la hidrólisis de conjugados. Los que favorecen la disminución de la concentración de hormona libre son: la conjugación, la oxidación y el transporte de salida (exportación, ex). Tras la actuación de la auxina en el crecimiento, se produce su destrucción. La concentración efectiva de hormona también depende de su adecuada compartamentación en la célula. (tomado de Azcón-Bieto y Talón 2000).

Teniendo en cuenta el pH de los diferentes compartimentos celulares, el citoplasma podría ser la localización preferente del AIA donde se encontraría en forma de anión (Azcón-Bieto y Talón 2000, Salisbury 1994).

Los valores de concentración endógena de hormona, en general, son del orden de nanogramos de sustancia activa por gramo de peso fresco. La estimación de estos valores, por lo tanto, requiere técnicas analíticas de alta sensibilidad y especificidad. En el caso de las auxinas, los extractos, después de fraccionamientos con distintos disolventes apolares, se pueden analizar por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR o HPLC, por sus siglas en inglés), usando detectores fluorimétricos o electroquímicos. La separación y cuantificación también se pueden realizar mediante cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas. Cuando los extractos están muy purificados también se puede utilizar un inmunoensayo para cuantificar el AIA (Azcón-Bieto y Talón 2000, Salisbury 1994).

Actualmente los diferentes estudios realizados con auxinas y sus conjugados utilizan ampliamente estos métodos (Ludwig-Müller 2000; Campanella *et al.*, 2004 y Hellgren *et al.*, 2004), y desarrollan nuevas técnicas a través de la combinación de estos equipos, obteniendo buenos resultados (Kowalczyk y Sandberg 2001).

## 2.5 Síntesis del AIA

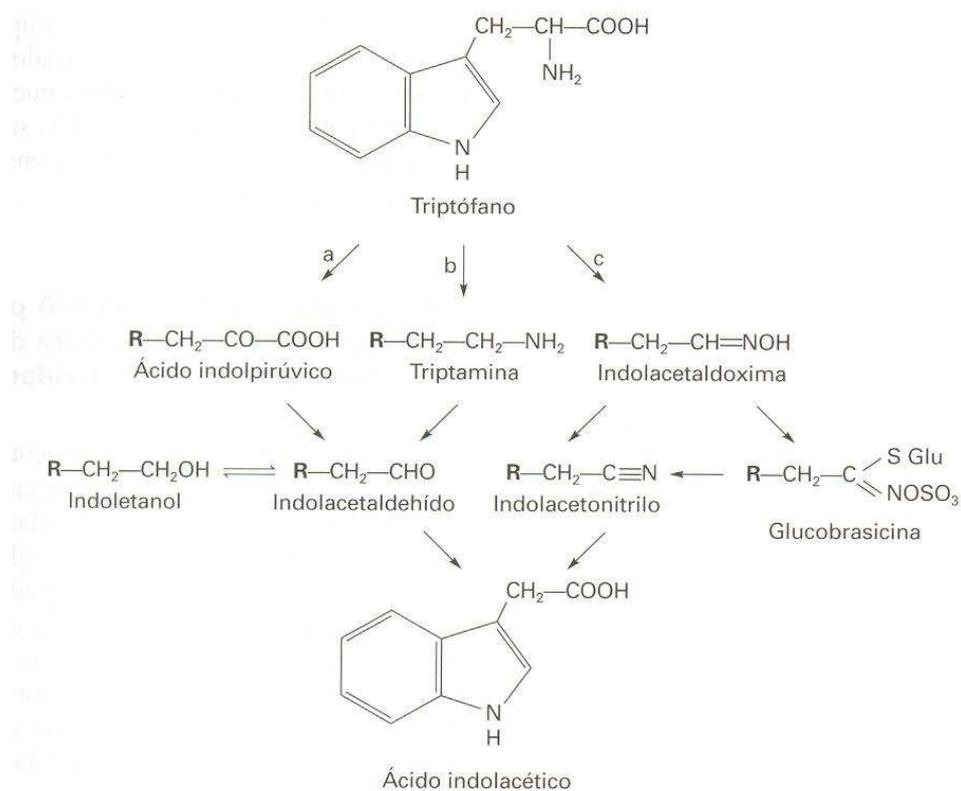
El AIA puede sintetizarse a partir del aminoácido triptófano y también a partir de uno de sus precursores. Algunos estudios indican que, incluso en una misma planta y dependiendo de la edad,

la síntesis de AIA puede ser dependiente o independiente de triptófano. La conversión del triptófano en AIA puede producirse por diferentes rutas. En la mayoría de las especies vegetales, la ruta más frecuente es la del ácido indolpirúvico. Algunas especies presentan además la ruta de la triptamina, mientras que la ruta de la indolacetaldoxima es característica de la familia Brassicaceae.

*Ruta del ácido indolpirúvico:* la transaminación del triptófano produce ácido indolpirúvico que se descarboxila para dar indolacetaldehído; la oxidación del aldehído a ácido produce AIA. Alternativamente, algunas plantas pueden reducir el indolacetaldehído a indoletanol, lo que puede incidir en la regulación de la biosíntesis del AIA (Fig. 3a).

*Ruta de la triptamina:* la descarboxilación del triptófano produce triptamina que, tras una desaminación oxidativa, se transforma en indolacetaldehído. Este compuesto es, por lo tanto, un intermediario común de la ruta anterior (Fig. 3b).

*Ruta de la indolacetaldoxima:* la desacarboxilación oxidativa del triptófano produce indolacetaldoxima que, por pérdida de agua, genera indolacetonitrilo. Esta transformación también puede producirse a través de la formación de glucobrasicina, un metabolito característico de las brasicáceas. La hidrólisis de indolacetonitrilo produce AIA (Fig. 3c).



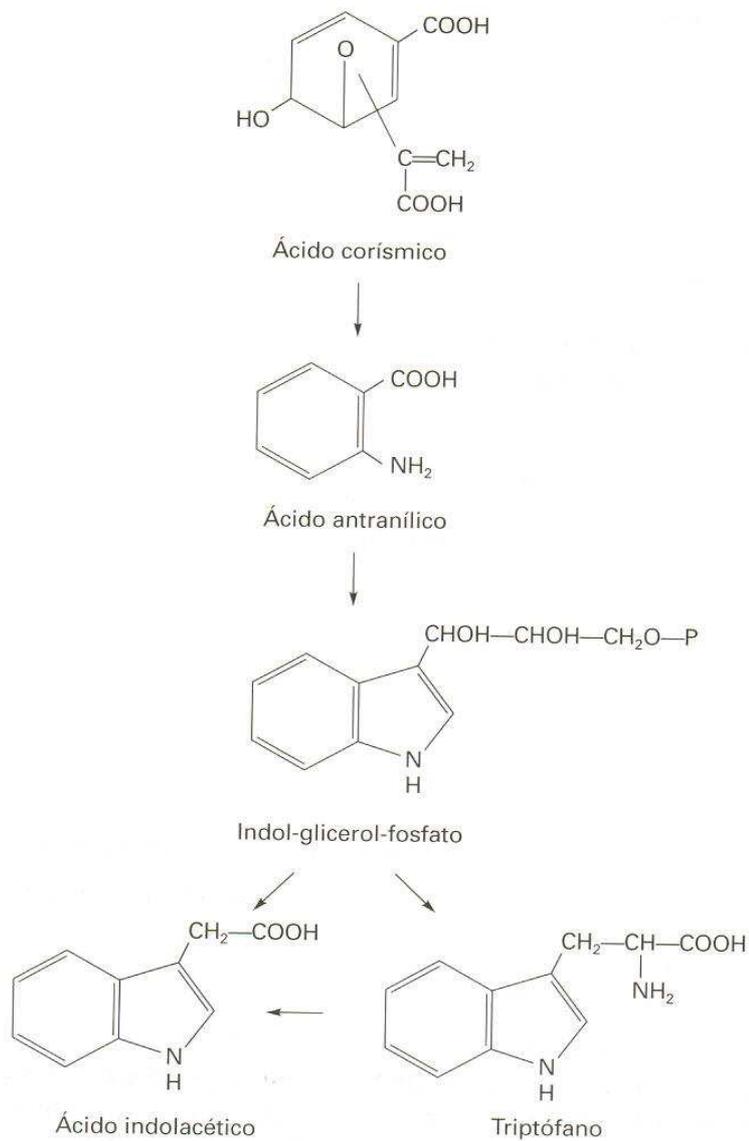
**Figura 3.-** Biosíntesis del AIA a partir del triptófano. a) Ruta del ácido indolpirúvico; b) ruta de la triptamina; c) ruta de la indolacetaldoxima. (R=anillo indólico) (tomado de Azcón-Bieto y Talón 2000).

Existen evidencias experimentales de que la síntesis de AIA puede ser independiente del triptófano. Así después de aplicar agua deuterada ( $^2\text{H}_2\text{O}$ ) a ciertos tejidos, el AIA marcado con deuterio ( $^2\text{H}$ -AIA) se sintetiza antes que el  $^2\text{H}$ -triptófano. El precursor de esta ruta parece ser el dolglicerolfosfato, que a su vez es precursor del triptófano (Fig. 4). La existencia de mutantes que bloquean la síntesis de triptófano y son deficientes en AIA apoya la idea de una ruta independiente de triptófano. Se han hecho estudios en maíz sobre la biosíntesis de auxinas, encontrándose por medio de un análisis retrobiosintético que la síntesis de AIA dependiente del triptófano es la ruta predominante, por otro lado, se habla de que la síntesis de AIA a partir de indolglicerolfosfato y la formación de AIA vía la condensación del indol con una acetil CoA o por un derivado del fosfoenolpiruvato pueden ser excluidas como rutas de biosíntesis de AIA para este caso particular (Glawischnig *et al.*, 2000).

## 2.6 La conjugación del AIA

Los términos auxina ligada o conjugada se utilizan para designar los compuestos formados por la unión covalente del AIA con otras moléculas (Fig. 5). Es muy frecuente la conjugación con aminoácidos y glucosa, aunque también se han detectado auxinas ligadas de elevado peso molecular en las que el AIA está unido a un oligosacárido, péptidos e incluso, proteínas. En algunos tejidos, la mayor parte del AIA se encuentra en forma de conjugados. Los conjugados amida (unión del AIA con los aminoácidos) son característicos de las leguminosas, mientras que los ésteres (unión del AIA con azúcares) abundan en cereales. Las auxinas conjugadas pueden desempeñar funciones de almacenamiento, de protección, de transporte y de desintoxicación. La función de almacenamiento o reserva del AIA estriba en la posibilidad de que las auxinas conjugadas puedan ser hidrolizadas en ciertas situaciones para dar AIA libre. Por otra parte las auxinas ligadas protegen al AIA de la oxidación por peroxidasa. Finalmente, la conjugación puede actuar como mecanismo de desintoxicación para eliminar el exceso de auxina, ya que en algunos tejidos el proceso es irreversible y puede incluir la compartimentación en vacuolas u otro espacio intra o extracelular.

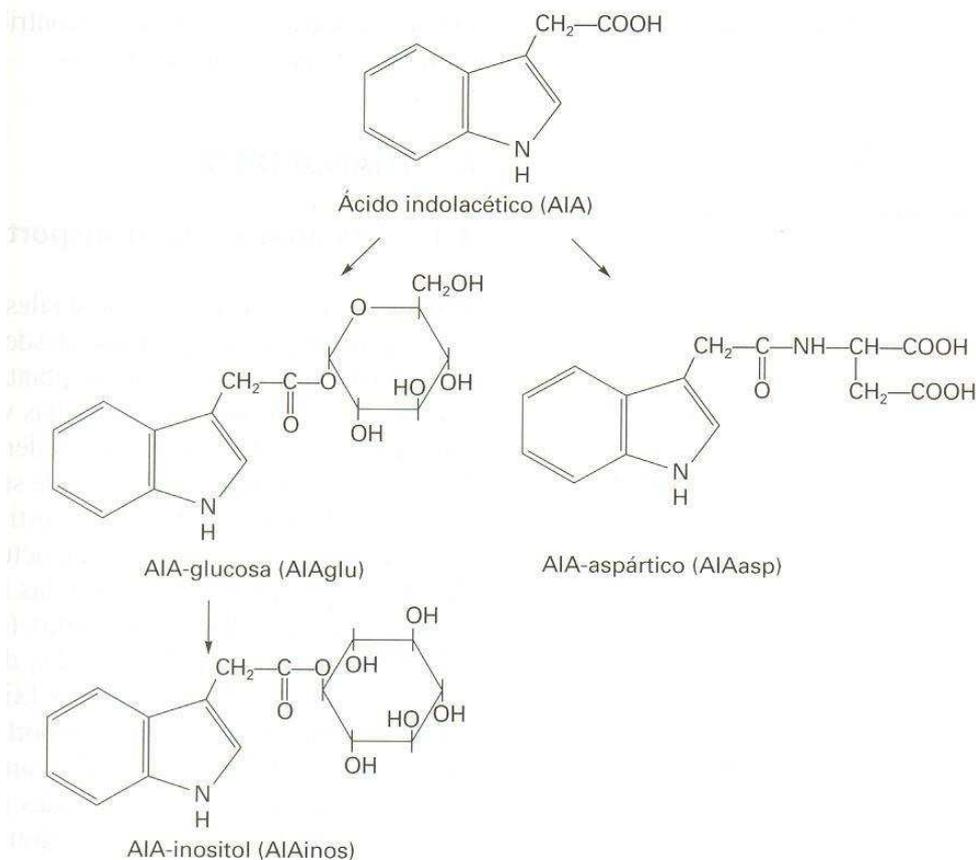
Trabajos recientes, han reportado la existencia de nuevos conjugados: N-(acetil-3-indol)-alfa-alanina (IA-Ala) y N-(acetil-3-indol)- $\alpha$ -leucina (IA-Leu) (Kowalczyk y Sandberg 2001). Además, también se estudian a las enzimas que hidrolizan a los conjugados. Se habla de ciertos miembros de una familia de hidrolasas de *Arabidopsis* que hidrolizan conjugados tipo amida para AIA libre *in vitro*, los cuales fueron estudiados; se reporta que las aminohidrolasas contribuyen al AIA libre de el pool auxínico durante la germinación en *Arabidopsis* (Rampey *et al.* 2004). Estas aminohidrolasas también han sido estudiadas en trigo en base a que han evolucionado funcionalmente en las especies de monocotiledóneas (Campanella *et al.* 2004).



**Figura 4.-** Biosíntesis de AIA independiente de triptófano. El AIA puede sintetizarse, el indol-glicerol-fosfato en una ramificación de la ruta del ácido corísmico, ruta general de síntesis de anillos aromáticos, a partir de un precursor del triptófano (tomado de Azcón-Bieto y Talón 2000).

## 2.7 Degradación del AIA

Otros procesos para eliminar el AIA son degradativos y de éstos existen dos tipos. La oxidación puede ser descarboxilativa, si se produce la pérdida como  $\text{CO}_2$  del grupo  $\text{COOH}$  de la cadena lateral, o no descarboxilativa, si se conserva dicha cadena. Las dos rutas oxidativas son irreversibles y los productos resultantes carecen de actividad biológica, lo que indica que ambos procesos actúan como mecanismos de inactivación y desintoxicación de la hormona.

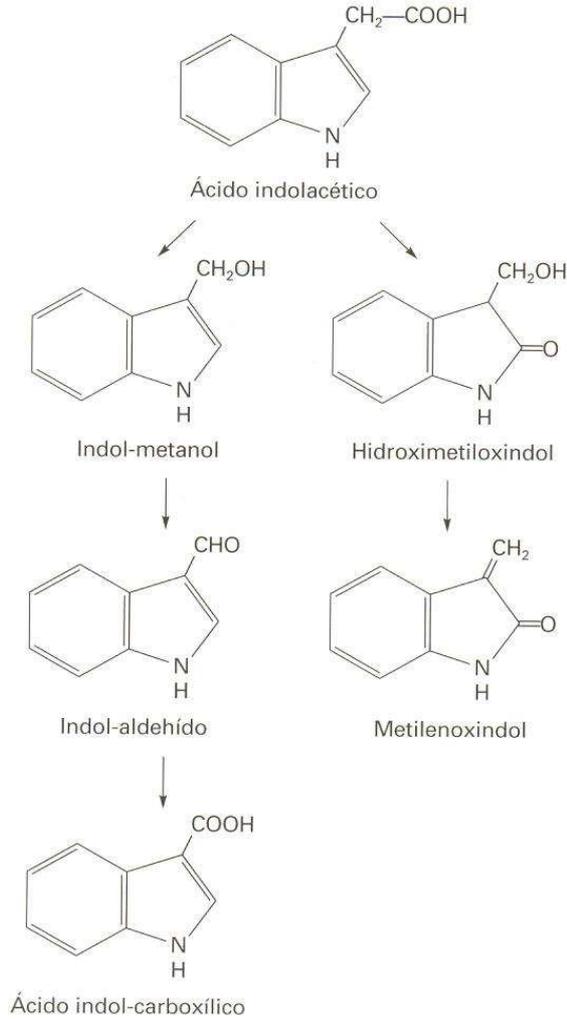


**Figura 5.-** Conjugación del AIA. El AIA puede formar conjugados mediante enlaces éster con glucosa o inositol, o enlace amida con aminoácidos como el aspártico (tomado de Azcón-Bieto y Talón 2000).

La oxidación descarboxilativa (Fig. 6) está catalizada por AIA oxidasa (AIAox), una actividad que poseen las peroxidasa vegetales. El peróxido de hidrógeno, los monofenoles y algunos iones metálicos como  $\text{Mn}^{+2}$  activan la reacción, mientras que los di y polifenoles la inhiben. Los productos iniciales de la reacción son indolmetanol e hidroximetiloxindol, dependiendo de que la oxidación se produzca en la cadena lateral o el núcleo indólico, respectivamente. Existen varias isoenzimas de la AIA oxidasa, y todas o casi todas son idénticas a las peroxidasa implicadas en los primeros pasos de la formación de lignina. Las auxinas sintéticas no son destruidas por éstas oxidasa, por lo que persisten en la planta mucho más tiempo que el AIA (Salisbury 1994).

La oxidación no descarboxilativa se produce en el anillo indólico del AIA sin pérdida del grupo carboxilo. La reacción da lugar al ácido 2-oxindol-3-acético y, posteriormente, al ácido 7-hidroxi-2-oxindol-3-acético. Los grupos OH de estos compuestos pueden reaccionar con glucosa para formar los correspondientes derivados glicosilados (Fig. 7). A diferencia de la oxidación descarboxilativa, la

oxidación no descarboxilativa sólo se ha podido comprobar en ciertas especies, en algunas de las cuales se ha confirmado la presencia de los productos de oxidación como constituyentes naturales.



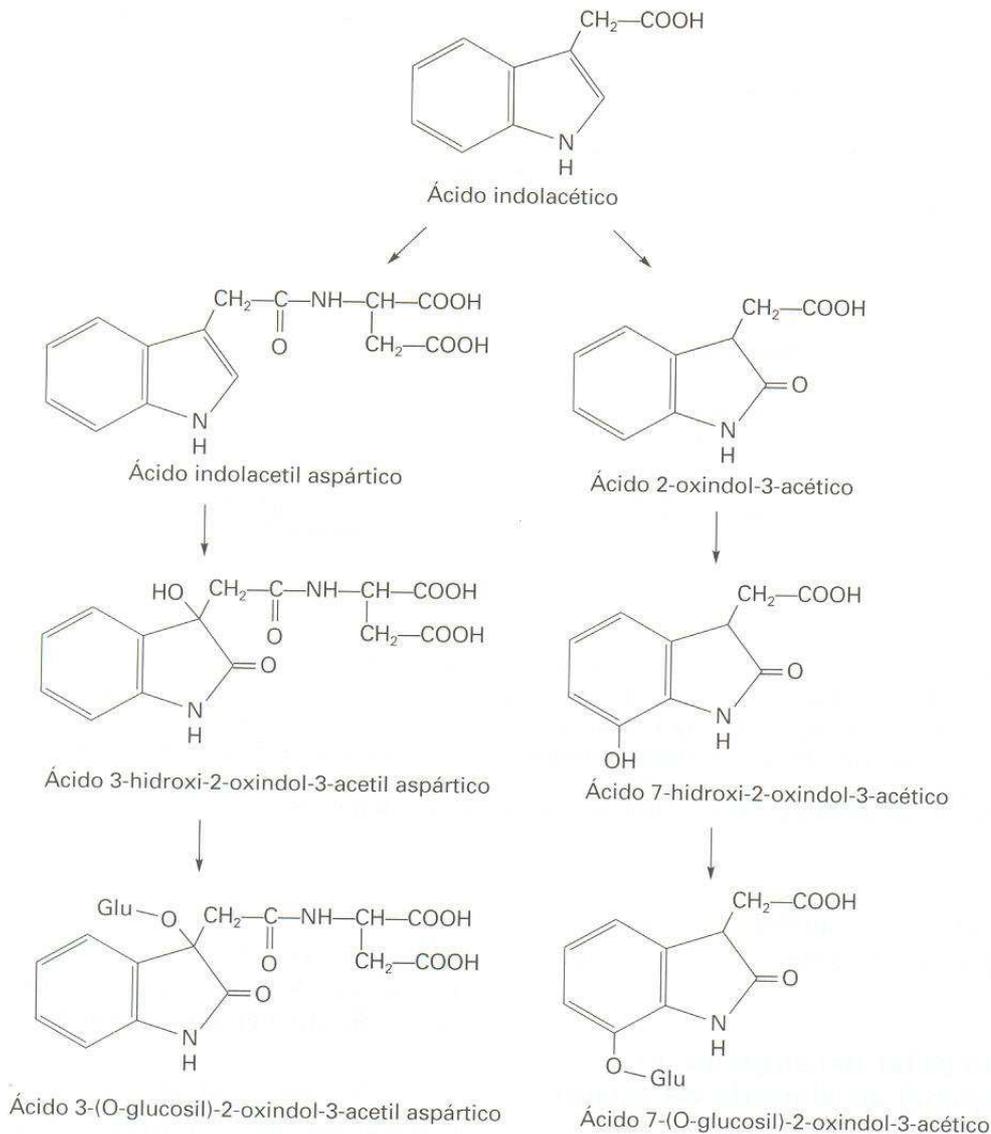
**Figura 6.-**Productos formados en la oxidación descarboxilativa del AIA. La reacción, catalizada por la AIA oxidasa, sería:  
 $\text{AIA} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{Productos} + \text{CO}_2$  (tomado de Azcón-Bieto y Talón 2000).

## 2.8 Transporte

El AIA, además de la difusión, puede ser transportado por células no vasculares, como las células del cambium y células parcialmente diferenciadas asociadas al floema, mediante un proceso diferente que se denomina transporte polar. Las auxinas sintéticas también experimentan transporte polar cuando se aplican en la planta. Las principales características del transporte polar son: 1) la velocidad de transporte oscila alrededor de  $10\text{mm h}^{-1}$ ; 2) la dirección del transporte está polarizada, es decir, se produce desde el ápice hacia la base del tallo (transporte basipétalo); en la raíz, la dirección es preferentemente acropétala (desde la base hacia el ápice), y 3) el movimiento

del AIA requiere energía metabólica ya que no se produce en ausencia de oxígeno ni en presencia de inhibidores de la síntesis de ATP.

Los parámetros de transporte de mayor significado fisiológico son la velocidad y la intensidad. La velocidad es el espacio recorrido por unidad de tiempo, mientras que la intensidad representa la cantidad de hormona transportada por unidad de tiempo.



**Figura 7.-** Productos formados en la oxidación no descarboxilativa del AIA (tomado de Azcón-Bieto y Talón 2000).

Para explicar el transporte polar de las auxinas, se ha propuesto una hipótesis quimiosmótica. Esta hipótesis presume el movimiento del AIA de una célula a la inmediatamente inferior a lo largo de una columna de células transportadoras. La entrada del AIA a las células transportadoras se produciría por toda la superficie celular, ya sea mediante transportadores de entrada bien por

difusión del AIA no disociado (AIAH). La difusión estaría favorecida por el gradiente de pH existente a ambos lados de la membrana plasmática. Este gradiente de pH sería generado por bombas protonicas ( $H^+$ -ATPasas de la membrana plasmática) que mantendrían un pH más bajo en la pared celular (pH=5) que en el citoplasma (pH entre 7 y 7.5). La membrana plasmática, permeable al AIA no disociado (AIAH), permitiría la entrada de la molécula que; una vez en el interior de la célula, se disociaría en  $AIA^- + H^+$  debido al mayor pH. La membrana es impermeable al anión ( $AIA^-$ ) que sólo podría salir de la célula mediante transportadores específicos (Azcón-Bieto y Talón 2000). La polaridad del transporte vendría dada por la distribución asimétrica de estos transportadores de salida que estarían localizados, exclusivamente, en la base de las células transportadoras. Fuera de la célula, el bajo pH de la pared

regeneraría la molécula de AIA (AIAH) que, de esta forma, entraría en la célula siguiente. La existencia de sustancias, como el ácido naftilalámico (NPA) y el ácido 2,3,5-triyodobenzoico (TIBA), que interactúan con los transportadores de salida e inhiben el transporte polar, respalda la hipótesis quimiosmótica. Los inhibidores del transporte polar, como NPA y TIBA, actúan como antiauxinas y algunos son utilizados en agricultura como herbicidas.

Estudios con el objetivo de determinar el transporte del AIA en raíces de *Arabidopsis* y determinar el transporte que controla el gravitropismo muestran que inmediatamente después de la aplicación de NPA la respuesta gravitropica se bloquea y que el transporte basipétalo de AIA ( $^3H$ ) en las raíces de *Arabidopsis* es inhibido por NPA (Rashotte *et al.* 2000).

## 2.9 Mecanismo de acción

Para poder explicar el mecanismo de acción de la auxina, habría que describir todos los pasos que llevan desde la unión de la auxina a su receptor, pasando por la transducción de esta señal, hasta la medida de una respuesta fisiológica concreta (crecimiento o diferenciación). Por el momento, faltan elementos para completar esta secuencia y no hay criterios suficientes para asociar la simple unión de una molécula de auxina a una posible proteína receptora con una determinada respuesta fisiológica. La auxina debe estimular algún tipo de comunicación entre la célula y la pared que la envuelve. Desde el punto de vista bioquímico significa la producción, por parte de la auxina, de algún(os) factores de ablandamiento de la pared cuya naturaleza hay que investigar. Por otra parte, desde el punto de vista biofísico, parece ser que la auxina ejerce su efecto causando un rápido incremento en la extensibilidad celular.

El efecto de la auxina se observa siguiendo la cinética del crecimiento. Existen dispositivos (auxanómetros) que permiten seguir la evolución del crecimiento en el tiempo. Bajo distintas condiciones experimentales en algunos ensayos, se han podido conocer algunas de las características de la elongación celular inducida por auxinas. Se han observado tres procesos importantes: a) se observa un periodo de latencia (8-10min) entre la aplicación de la hormona y el

incremento en la velocidad de crecimiento; b) que se requiere la presencia continua de auxina y una osmorregulación suficiente para que la turgencia esté siempre por encima del umbral necesario para iniciar el crecimiento, y c) el proceso requiere energía (ATP; ATP-*asas* funcionales), así como la síntesis de proteínas, ya que inhibidores específicos, en ambos casos, bloquean la acción auxínica (Azcón-Bieto y Talón 2000).

La auxina podría ejercer su acción a través de la acidificación del apoplasto. Aunque existen diferencias de pH entre compartamentos celulares, esta teoría del crecimiento por acidificación propone que la estimulación del crecimiento producida por la auxina se debería a la excreción de protones hacia el espacio apoplástico, con la disminución de su pH por debajo de 5.5, y la consiguiente alteración en la estabilidad de los enlaces de la pared o la actividad de ciertas enzimas. La teoría requiere que: a) la auxina provoque la excreción de protones en las células que crecen; b) la adición de ácidos a los tejidos ejerza un efecto similar al de la auxina (siempre que la acidez alcance las paredes celulares); c) las disoluciones reguladoras neutras, infiltradas en los tejidos, contrarresten la acción de la hormona, y d) cualquier agente que induzca la excreción de protones también provoque un crecimiento celular rápido. Diversos tejidos cumplen éstos requisitos, pero existen lagunas que impiden generalizar la teoría. El crecimiento mediante ácidos no es sostenido, mientras que con auxina sí lo es. Deben de existir más factores de ablandamiento, además de los protones. Además, es difícil explicar el periodo de latencia en la acción. No está todavía claro si hay activación de ATP-*asas*, alteración en su velocidad de recambio (aumento en el número de moléculas de enzima) o si la excreción de protones se realiza de forma masiva a través de la fusión de vesículas del aparato de Golgi (cargadas de protones) con la membrana celular externa (Azcón-Bieto y Talón 2000).

El crecimiento podría implicar varios procesos con fases que se solapan. Podría hablarse de una respuesta rápida a la auxina (mediada por factores químicos), junto con otra más lenta (mediada por la expresión de genes), pero falta apoyo experimental suficiente para sostener esta hipótesis.

Existen receptores auxínicos; el receptor más aceptado, por el momento, es una ABP-1 (auxin binding protein 1) aislada en coleóptilos de maíz y consistente en un dímero con dos subunidades de 22kDa cada una (Azcón-Bieto y Talón 2000).

Las auxinas modifican la expresión génica. En geles de poliacrilamida, la incubación en presencia o ausencia de auxina muestra la inducción por ésta de marcaciones específica. Por otra parte, se han construido genotecas de cDNA preparadas a partir de mRNA extraído de tejido tratado con auxina. Mediante métodos de búsqueda por hibridación diferencial, se han caracterizado numerosos cDNA de respuesta auxínica que se pueden agrupar en dos clases: (1) secuencias que se inducen después de una hora o más de exposición a la auxina (respuestas a largo plazo), y (2) secuencias que son moduladas a los pocos minutos de la aplicación de auxina (respuesta a corto plazo). A esta última clase pertenece un grupo de RNA que se induce en hipocótilos de soja, al cabo de cinco

minutos de ser tratados con auxina. Se les denomina SAUR (small auxin up-regulated RNA) (Walter y Key, 1982 citado en Woodward *et al*; 2005). Las proteínas que codifican podrían afectar el crecimiento, aunque su expresión más típica se ha observado en experimentos sobre gravitropismo.

## **2.10 Deterioro Ambiental**

De un tiempo a la fecha ha ocurrido un fuerte impacto en el ambiente debido a alteraciones de origen antropogénico. En un periodo relativamente corto la vegetación de México ha sufrido extensas alteraciones antrópicas. Muy pocas áreas del territorio nacional contienen aún comunidades ecológicas inalteradas (Vázquez-Yanes y Batis 1996).

México cuenta con zonas desérticas que se caracterizan por presentar una gran diversidad florística y faunística, entre ellas encontramos a la Reserva de la Biosfera del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. El valle de Tehuacán-Cuicatlán está considerado como uno de los centros más importantes de la biodiversidad de México, también es considerada como una importante fuente de evidencia para la reconstrucción de la historia cultural de Mesoamérica y cuenta con comunidades indígenas nahuas, popolacas, mixtecas, ixcatecas, mazatecas, chinantecas y cuicatecas. (Valiente Vanuet 2000). Su gran diversidad florística, faunística y de formas de vida, así como su alto índice de endemismo de plantas vasculares, hacen de la Reserva una zona de gran relevancia para su conservación. Fisiográficamente, el Valle de Tehuacan es parte de la provincia Mixteca-Oaxaqueña, en la cual existen pequeños valles de origen tectónico, entre los que destacan los de Cuicatlán, Huajuapán, Tehuacán, Tepelmeme y Zapotitlán (Villaseñor et al. 1990 citado en Valiente-Banuet 2000).

En el Valle de Tehuacán-Cuicatlán se presentan una serie de problemáticas como lo son: la pérdida de la diversidad biológica, a través del registro de la ausencia de algunas especies de animales y plantas que antaño se encontraban ampliamente distribuidas en la zona; el saqueo de especies raras, amenazadas o en peligro de extinción por medio de la venta de especies de gran valor económico a precios bajos; la caza furtiva debido a que se favorece la práctica de la cacería deportiva sin la respectiva autorización; y por último la explotación excesiva de mantos de agua subterránea por causa del crecimiento demográfico, el desarrollo industrial y la apertura al cultivo.

En este contexto, la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) tiene como objeto de estudio el deterioro ambiental en las zonas áridas, su objetivo es entenderlo desde varias perspectivas y sentar las bases para revertirlo y lograr la restauración de los sistemas alterados, así como fomentar la conservación y el manejo adecuado de los recursos naturales. Por otro lado, se menciona que con base en el problema de la destrucción de las comunidades vegetales naturales y el consecuente deterioro ecológico que esto acarrea, se ha propuesto como una alternativa el

empleo de especies de plantas herbáceas y leñosas nativas en la restauración ecológica, la reforestación y el desarrollo de sistemas agrosilvopastoriles (Vázquez-Yanes y Batis 1996).

Por otro lado, el nodricismo es un fenómeno que se presenta comúnmente en zonas áridas y semiáridas; fenómeno que puede ser considerado esencial para el desarrollo de estas comunidades, ya que de este depende la mayor supervivencia de las plántulas por las ventajas ambientales conferidas sobre la planta bajo nodrizaje (Chávez, 2000 y Godinez-Alvarez y Valiente –Banuet 1998; citados en Santiago, 2003).

### **3.0 JUSTIFICACIÓN**

Por todo lo anterior y como parte del proyecto UBIPRO, este trabajo pretende buscar alternativas para el enraizamiento de *Mimosa luisana*, *Prosopis laevigata* y *Cercidium praecox*, proponiendo su enraizamiento en laboratorio; con el fin de acelerar el tiempo de desarrollo y posteriormente proponerlo como un medio de restauración a través de árboles nativos, en la zona de Zapotitlán Salinas, Puebla.

## 4.0 ESPECIES DE ESTUDIO

### 4.1 *Cercidium praecox*

**Familia:** Caesalpinaceae

**Nombre científico:** *Cercidium Praecox* (Ruiz y Pavón) Harms (Fig. 8).

**Nombre común:** "Palo verde", "Manteco"

**Descripción:**

Leguminosa que se encuentra en selvas bajas caducifolias preferentemente a la orilla de los ríos, a altitudes que van de los 200 a los 1100 msnm, es un árbol de 10-12 m o más, pubescente con frecuencia, con un tronco corto de 30 cm de diámetro, espinas, hojas bipinadas, inflorescencias en racimos a lo largo de las ramas maduras, flores con pedicelos, pétalos pálidos o profundamente amarillos, semillas oblongas, compresas de color pardo-grisáceas de 1 cm de largo de 1-20 por vaina (Carter 1974).

**Distribución:**

Es un árbol propio de las zonas secas, forma parte de la vegetación del Bosque espinoso; durante la mayor parte del año permanece sin hojas, pero sus tallos verdes realizan fotosíntesis en las épocas desfavorables. Se distribuye en los cañones de clima relativamente seco que forman el río de Tehuantepec y sus afluentes, en el sureste de Oaxaca, en los terrenos aluviales próximos al Río Tepalcatepec, en Michoacán y en zonas limítrofes de Jalisco, así como en la Cuenca Alta del Papaloapan, en la región de Cuicatlán, Oaxaca (Rzedowski 1988).

**Aspectos ecológicos:**

Su periodo de floración es entre los meses de marzo y septiembre, pero en la región de Zapotitlán se observa una sincronía en su floración, que ocurre durante los meses de febrero y marzo. Esta especie tiene la capacidad de fotosintetizar en la época de sequía, cuando no presenta hojas, gracias a sus tallos de color verde, lo que le permite obtener la energía necesaria para la reproducción sexual. Durante los meses de junio a agosto (-octubre), crece en el tallo una larva de mariposa (*Paradirphia famosa*: Lepidoptera, Saturniidae), conocida localmente con el nombre de "cuchamá", que se alimenta del tallo y de las hojas de éste árbol.

**Uso tradicional:**

Esta planta es cultivada por los habitantes de la región, debido a que en ocasiones se siembran individuos de *Hylocereus undatus* (pitahaya) al pie de su tallo. Estos son protegidos por la sombra del palo verde, el cual proporciona un ambiente relativamente fresco y húmedo. Esta especie es también muy buscada en los meses en que abunda el cuchamá, debido a que esta larva se hierve y

se cocina posteriormente al gusto; esta larva es un platillo muypreciado en la región. También se utiliza la leña del palo verde como combustible de buena calidad (Arias 2000).



**Figura 8.-** *Cercidium Praecox* en Zapotitlán de las Salinas, sus hojas y su flor.

#### **4.2 *Mimosa luisana***

**Familia:** Mimosaceae

**Nombre científico:** *Mimosa luisana* Brandege (Fig. 9)

**Nombre común:** "Cumito", "Madre de los ttechos"

**Descripción:**

Es un arbusto, con ramas pubescentes, con espinas aplanadas. Estípulas de 3.5 mm de longitud; hoja pinada de 4 a 5 pares; de 4 a 5 pares de foliolos, oblongos a obovados, 4 mm de longitud, 1.5 a 2 mm de ancho, pubescente en ambos lados; inflorescencia de 2 a 3 cm de longitud; flores pubescentes; cáliz pequeño, ciliado; corola con 4 a 5 lóbulos; de 8 a 10 estambres; legumbre linear, de 3 a 4 cm de longitud, 4 a 5 mm de ancho, densamente tomentosa, sécil, subulada y no ornamentada (Lord y Nelson 1928).

**Distribución:**

Forma parte del matorral xerófilo, se encuentra dentro del matorral espinoso de la región de Cuicatlán, Oaxaca, que pertenece a la cuenca del Papaloapan, se encuentra frecuentemente en la vegetación secundaria derivada de los Bosques tropicales perennifolios de México, y se le puede encontrar también como una especie entre los zacatales (Rzedowski 1988).

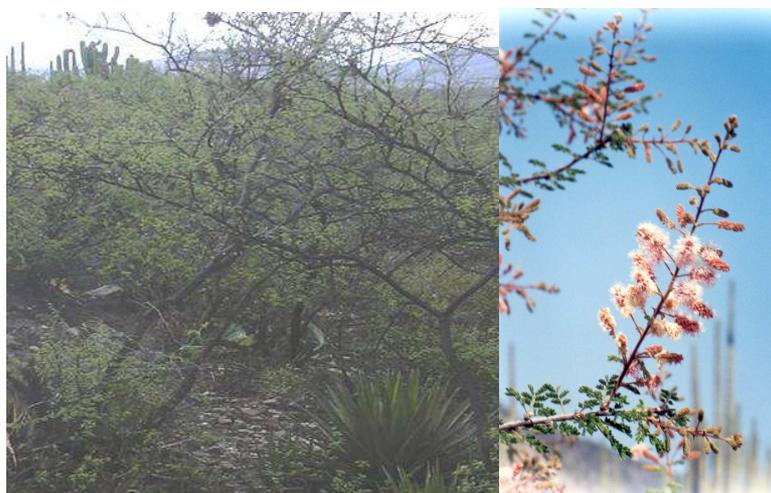
Es una especie endémica de México. Se distribuye en los estados de Puebla y Oaxaca. Presenta amplia distribución en el Valle de Zapotitlán Salinas.

**Aspectos ecológicos:**

Su periodo de floración es durante la temporada de lluvias. Es un árbol o arbusto relativamente pequeño y de follaje extendido, que pierde sus hojas durante la época de secas. Debajo de la cobertura de esta especie y gracias a la sombra que produce, es común encontrar individuos juveniles o plántulas de diferentes especies de cactáceas, agaváceas y pequeños arbustos, fenómeno que se conoce como nodricismo.

**Uso tradicional:**

Las ramas secas de esta especie son utilizadas como leña. (Arias 2000). También es común que sean utilizadas como cercas.



**Figura 9.-** *Mimosa luisana* y su flor en Zapotitlán Salinas

**4.3 *Prosopis laevigata***

**Familia:** Mimosaceae

**Nombre científico:** *Prosopis laevigata* (Humb & Bonpl. Ex Will) M.C. Johnston (Fig. 10).

**Nombre común:** "Mezquite"

**Descripción:**

Puede crecer en forma arbustiva o arbórea, alcanzando alturas de 2 a 3 m, o de 6 a 7m respectivamente; aunque Orozco (1996) menciona que puede alcanzar alturas de hasta 12 m en su forma arbórea. Es una especie endémica de México (Frías-Hernández et al. 2000 citado en Roldán 2004). Su tronco llega a medir hasta 1 m de diámetro, aunque generalmente es de 30 a 60 cm, su corteza es gruesa de color café-negrusco y algo fisurada, su copa es más ancha que alta, las ramas son glabras o pilosas, armadas de espinas estipulares de 1-4 cm de largo, hojas pecioladas con 1-3 pares de pinas, cada una con 10-20 pares de folíolos sésiles, oblongos o linear oblongos, de 5-15 mm de largo por 1-2 mm de ancho, ápice obtuso, margen entero, base obtusa, glabros o

ligeramente pubescentes; flores dispuestas en espigas densas de 5-10 cm de largo, de color blanco amarillentas; séciles o casi séciles; son hermafroditas, actinomorfas y producen néctar (Siquieros, 1996 en Roldán 2004), cáliz de 1 mm, glabro o puberulento; corola de 2.5 a 3 mm de largo; pétalos agudos, tumentulosos en el margen y en el interior; estambres de 4-5 mm de largo; legumbre linear, algo falcada de 7-20 cm de largo por 8-15 mm de ancho, comprimida, glabra, de color café amarillento, a veces rojizo, algo constreñida entre las semillas; estas oblongas, comprimidas de 8-10 mm de largo, de color blanco amarillento (Calderón et al 2001).

Esta especie presenta un solo periodo de reproducción por año y el tiempo de desarrollo de las flores hasta la absción de los frutos maduros es de aproximadamente 110 días. La fructificación comienza en mayo y continua hasta agosto (Roldán 2004).

### **Distribución:**

Se distribuye desde el Sur de los Estados Unidos y en México se encuentra en los estados de Aguascalientes, Coahuila, Chiapas, Durango, Guerrero, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, Veracruz y Zacatecas. Esta especie es abundante en todo el Valle de Zapotitlán Salinas (Arias 2000).

Forma parte del bosque espinoso y del matorral xerófilo, se distribuye en la Sierra de Tamaulipas, situada en el sector sureste del Estado del mismo nombre, se menciona como posible miembro de la parte baja del Istmo de Tehuantepec. Muy ocasionalmente se observan algunas parcelas que conservan aun el mezquital primitivo y de ellas puede verse que *Prosopis laevigata* es la especie prácticamente exclusiva del estrato arbóreo.

Como parte de los mezquiales, se encuentra en zonas áridas, en regiones de clima seco del Altiplano.

El matorral micrófilo de *Prosopis laevigata*, que cabe diferenciar del bosque en el que predomina la forma arbórea de la misma especie, es característico de algunas zonas de suelo aluvial profundo en la Altiplanicie.

También es común encontrarlo como un componente de la vegetación halófila en San Luis Potosí y Zacatecas (Rzedowski 1988).

### **Aspectos ecológicos:**

Su periodo de floración es entre los meses marzo y mayo. Es un árbol de tamaño regular y de hojas pequeñas que se pierden durante los meses de secas. Únicamente sobre esta planta crece un insecto conocido localmente como "cocopache", el cual completa su ciclo de vida alimentándose de los tallos y hojas.

El mezquite forma parte del equilibrio ecológico de los desiertos mexicanos; ya que cuenta con un sistema de raíces profundas, que participan en la conservación del suelo y del agua. Además por ser una leguminosa, contribuye a nitrogenar el suelo (Orozco 1996).

**Uso tradicional:**

Al pie de los tallos de esta especie es común que se siembren individuos de *Hylocereus undatus* (pitahaya), sirviendo de sostén y de sombra. En la temporada en que crece el cocopache, los habitantes de la región visitan a los mezquites en busca de estos insectos, ya que son un platillo muypreciado para ellos. La leña de esta planta es considerada como de muy buena calidad, por lo cual es bastante colectada (Arias 2000).

Todas las partes constituyentes de los árboles de mezquite prácticamente tienen un uso generalizado (madera, flores, semillas, raíces, etc.). Los árboles de mezquite producen una resina o exudado semejante a la goma arábica, de ahí que sea susceptible a su utilización en la industria alimenticia como un sustituto más económico (Orozco 1996).



**Figura 10.-** *Prosopis laevigata* en Zapotitlán de las Salinas, sus semillas.

## 5.0 ANTECEDENTES

Vázquez-Yanes y Batis (1996) mencionan que las plantas valiosas para la restauración ecológica que pueden mejorar con el tiempo la calidad de los suelos degradados deberían tener las siguientes cualidades:

- a) Ser de fácil propagación
- b) Resistir condiciones limitantes, como baja fertilidad, sequía, suelos compactados, con pH alto o bajo, salinidad.
- c) Tener rápido crecimiento y buena producción de materia orgánica como hojarasca.
- d) Tener alguna utilidad a su efecto restaurador
- e) Nula tendencia a adquirir una propagación de maleza invasora incontrolable
- f) Presencia de nódulos fijadores de nitrógeno o micorrizas que compensen el bajo nivel de nitrógeno, fósforo y otros nutrientes en el suelo.
- g) Que tienda a favorecer el restablecimiento de las poblaciones de la flora y la fauna nativas (hábitat y alimento).

Además de mencionar que para hacer su uso exitoso de las especies nativas de cada región para programas de sistemas agrosilvopastoriles, restauración ecológica y reforestación es indispensable conocer la biología, ecología, propagación y manejo de las especies disponibles a fin de posibilitar su domesticación y así, desarrollar técnicas eficientes de propagación o de mejoramiento. Sin embargo también es importante tomar en consideración la utilidad de las especies para la población local.

La importancia de las tres especies antes descritas también es reconocida en estudios de vegetación realizados en la zona, así tenemos que de las 29 asociaciones vegetales encontradas por Valiente-Banuet y sus colaboradores (2000), para el Valle de Tehuacan-Cuicatlán; *Cercidium praecox*, *Mimosa luisana* y *Prosopis laevigata* forman parte de las distintas asociaciones (10, 14 y 8 respectivamente), como especies importantes y con mayor presencia en las diferentes asociaciones vegetales.

Por otro lado, el nodricismo es un fenómeno que se presenta comúnmente en zonas áridas y semiáridas, por lo que este fenómeno es fácil de observar en el Valle de Zapotitlán entre *Prosopis laevigata* y *Neoubuxbaumia tetetzo*; éste fenómeno puede ser considerado esencial para el desarrollo de estas comunidades, ya que este nodricismo principalmente permite la mayor supervivencia de las plántulas por las ventajas ambientales conferidas sobre la planta bajo nodrizaje (Chávez, 2000 y Godinez-Alvarez y Valiente –Banuet 1998; citados en Santiago, 2003).

Valiente-Banuet y Ezcurra (1991) mencionan que *Mimosa luisana* es una leguminosa que es de las nodrizas más abundantes en la comunidad del Valle de Tehuacan; y que el mejoramiento de el medio físico producido por las plantas nodrizas es importante en las dinámicas de poblaciones de estructuras fragmentadas de muchas comunidades de plantas desérticas. Concluyendo que el efecto de las plantas nodrizas en las regiones áridas y semiáridas es principalmente el resultado de la sobrevivencia diferencial en micrositios nodrizados con menor radiación solar directa, y consecuentemente, con temperaturas durante el día más bajas y más baja evaporación.

Actualmente se realizan varios trabajos donde se estudian diferentes variables a cerca del proceso de formación de raíces adventicias. Algunas de estas variables son: la época de colecta de las plantas, la utilización de diferentes partes vegetativas, la diferencia entre especies de fácil y difícil enraizamiento, el transporte de las auxinas aplicadas (naturales y sintéticas), así como, su concentración y modo de aplicación; papel de las peroxidasas y AIA oxidasas en el proceso de enraizamiento, cuantificación de los niveles endógenos de auxina, entre otros.

Marks y Simpson (2000) compararon dos especies, con diferencia en su habilidad de enraizamiento, con un sistema experimental basado en plantas de fácil (*Forsythia intermedia*) y difícil (*Syringa vulgaris*) enraizamiento, en secciones del tallo internodales, encontrando que la inducción de raíces en la planta de difícil enraizamiento fue claramente polar, respondiendo mejor a la aplicación de AIB en el extremo distal, mientras que la especie de fácil enraizamiento fue igualmente sensible a la aplicación de AIB aplicado en el extremo distal y proximal a las yemas axilares. Mencionando que los internodos de la especie de fácil enraizamiento fueron más sensibles, y desarrollaron raíces después de la aplicación de 3  $\mu\text{M}$  de AIB al extremo distal y proximal, mientras que la planta de difícil enraizamiento requirió de la aplicación de 30  $\mu\text{M}$  de AIB en el extremo distal.

Ford y colaboradores (2001) hacen también una comparación entre dos especies; una fácil y una difícil de enraizar, encontrando para el caso de los esquejes de la lila (difícil de enraizar) una disminución de la habilidad de enraizamiento en una temporada; así como una disminución en la concentración inicial de AIA libre en la base de los esquejes. También se observó una disminución en la habilidad del transporte polar de auxinas en términos de intensidad de transporte y porcentaje, en los esquejes de lila durante el periodo de máximo crecimiento por la aplicación de AIA. Por último, se demostró la importancia del transporte polar de auxinas en la formación de raíces adventicias en ambas especies, con el uso de un inhibidor del transporte polar (TIBA). Se concluye que las diferencias en el transporte polar de las auxinas de ambas especies contribuye a las diferencias en la habilidad rizogénica.

En otro estudio realizado, en el laboratorio donde se realizó este trabajo, se probaron varias auxinas y derivados de estas, en distintas especies; entre ellas *Dendranthema grandiflora* (crisantemo) y *Dianthus caryophyllus* (clavel), de fácil y difícil enraizamiento respectivamente, encontrando una alta correlación entre la actividad elevada de AIAoxidasa y la dificultad de enraizamiento, así como una baja afinidad por el sustrato de un derivado auxínico sintético, el *p*-nitrofenil indol-3-acetato.

Por otra parte, Luckman y Menary (2002) trabajando con esquejes de *Eucalyptus nitens* encontraron una gran estimulación de raíces, la cual se obtuvo cuando las auxinas fueron aplicadas a los esquejes por lo menos cuatro semanas después de que los esquejes fueron colectados y colocados en una cámara húmeda. Cabe mencionar que los esquejes fueron estimulados por la aplicación de AIB administrada en solución por 48 hrs.

En un estudio realizado con clavel *in vitro*, con la aplicación de AIA, ANA y AIB se encontró que todos los tratamientos promovieron la formación de raíces, pero no difirieron del grupo control ni entre las distintas concentraciones aplicadas, ni tipos de reguladores. Mencionando que diversas especies, principalmente herbáceas, enraízan fácilmente *in vitro* con bajos niveles de auxina o, simplemente, en un medio básico sin reguladores, corroborando esta información con los resultados obtenidos en el trabajo (Cuzzuol 2000).

Se ha mencionado también, que la aplicación de estimuladores de crecimiento sobre los acodos es benéfico para este tipo de propagación, así tenemos que Sparks y Chapman (1970) (citados en Hartman 1986) mencionan que aumentando la concentración, hasta el 4% de AIB en talco ha incrementado el enraizamiento y la supervivencia en acodos aéreos *Carya illinoensis*. Además, se habla de que en algunas plantas el enraizamiento se efectúa en un tiempo de dos a tres meses o menos.

En estudios con plantas leñosas, en acodos aéreos sobre ramas laterales con aplicación de tratamientos auxínicos, se observó que a los 20 días de puesto el tratamiento ya existía una respuesta, presentándose como una separación de la corteza en la zona de raspado. Posteriormente se produjo la formación de pequeños callos de color blanco, que dieron lugar a la formación de raíces (60 %) a los 100 días de haberse realizado los acodos (Vega *et.al.* 1999a).

Se ha encontrado que en *Prosopis alba* Gris el enraizamiento de acodos tratados con AIB y ácido fenilacético en mezcla con talco inactivo en polvo (2%) durante 150 días presentan un 35% de raíces adventicias y un 15 % de callos basales o masa de tejido indiferenciado. Comentando que el

bajo porcentaje en la formación de raíces pudo deberse a las escasas precipitaciones durante el periodo de la realización de los acodos; ya que esto pudo producir alteraciones en la marcha de funciones y procesos indispensables para el crecimiento y la vida de la planta (Vega *et al.* 1999b).

El control del nivel endógeno de auxinas es uno de los factores que más se ha relacionado con la capacidad rizogénica de las especies hasta ahora estudiadas. Se ha atribuido un papel especialmente importante en éste proceso de control a las peroxidadas. Estas son enzimas cuya función primaria es oxidar moléculas a expensas de peróxido de hidrógeno. Además se encuentran implicadas en la en los primeros pasos de formación de lignina (Salisbury 1994).

Existen varias isoenzimas de la AIAoxidasa, y todas o casi todas son idénticas a las peroxidadas. Las auxinas sintéticas no son destruidas por éstas oxidasas, por lo que persisten en la planta mucho más tiempo que el AIA (Salisbury 1994).

Kokkinakis y Brooks (1979) mencionan que muchas peroxidadas de las plantas catalizan la oxidación de AIA por moléculas de O<sub>2</sub> en presencia de fenol y iones manganosos. También reportan que se encontró oxidación del AIA por la peroxidasa aniónica de tomate en extractos con peróxido de hidrógeno.

Entre los trabajos donde se realizan evaluaciones de los niveles endógenos de AIA, tenemos estudios como el de Nordström y Eliasson (1991) en el cual reportan que los niveles de AIA en el tejido de formación de raíces de la base del esqueje y el brote apical permanecieron constantes durante el periodo estudiado y fueron similares los niveles ocurridos en plantas intactas. Por lo que mencionan que como lo muestran los resultados, la iniciación de raíces puede ocurrir sin un incremento de los niveles de AIA en la zona de regeneración de raíces. Concluyendo que el estado estable de la concentración es mantenido por el transporte basipétalo del ápice y por conjugación de exceso de AIA con ácido aspártico, por eso impiden la acumulación de AIA en el tejido.

## **6.0 HIPÓTESIS:**

Con base en lo anterior se plantearon las siguientes hipótesis:

- Las auxinas son hormonas reguladoras del proceso de formación de raíces, de su crecimiento y desarrollo; por lo que se espera que los esquejes y acodos tratados con auxinas exógenas, favorezcan la formación de raíces adventicias.
- Por otra parte, la actividad enzimática de la AIAoxidasa es un factor que se encuentra relacionado de manera inversa con el porcentaje de enraizamiento, por lo que podríamos esperar que aquella especie que obtuviera la menor actividad enzimática, tuviera un mayor porcentaje de enraizamiento.
- Debido a que los niveles de auxinas dependen en gran medida de su oxidación, el AIB y el *p*-nitrofenil indol-3-acetato (*p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA) serán menos degradados por la AIAoxidasa que el AIA, por lo que inducirán un mayor enraizamiento.

## **7.0 OBJETIVOS:**

Para comprobar las hipótesis anteriores, se plantearon los siguientes objetivos:

### **7.1 General**

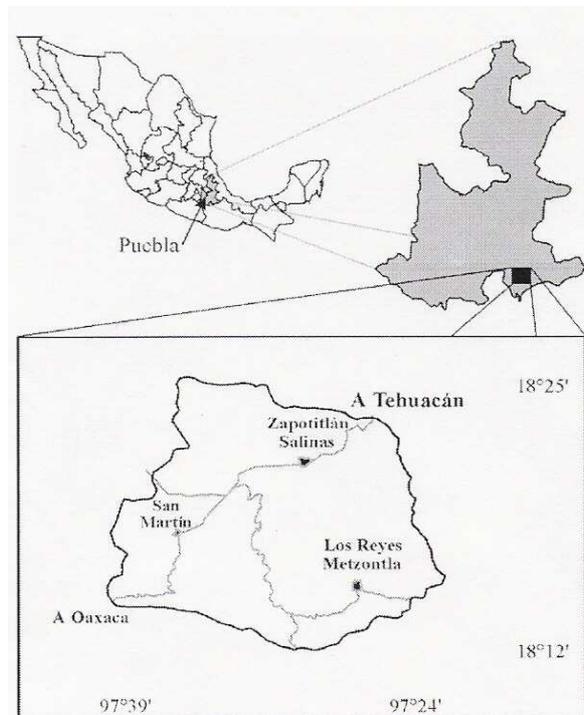
- Evaluar de la acción de AIA, AIB y *p*-nitrofenil indol-3-acetato (*p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA) en la rizogénesis de *Prosopis laevigata*, *Cercidium praecox* y *Mimosa luisana*

### **7.2 Particulares**

- Comparar tres componentes auxínicos y tres concentraciones de cada uno, en tres especies de plantas.
- Evaluar la actividad de peroxidasas y AIAoxidasas como indicadores de potencial enraizador
- Cuantificar el AIA endógeno en esquejes bajo enraizamiento y sin enraizamiento, por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR o HPLC)

## 8.0 AREA DE ESTUDIO

El Valle de Zapotitlán Salinas se encuentra enclavado en la porción occidental del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, al sureste del estado de Puebla y zonas adyacentes al noroeste de Oaxaca. Tiene una superficie aproximada de 270 km<sup>2</sup> y se ubica entre los 18° 12' y 18° 24' de latitud norte y entre los 97° 24' y 97° 36' de longitud oeste, con un rango altitudinal de 1,460 a 2,600 msnm. Pertenece a la provincia fisiográfica de la Sierra Madre del Sur, subprovincias Sierras Centrales de Oaxaca, dentro de la región de la alta Mixteca y a la provincia florística del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Desde el punto de vista edáfico, los suelos son someros y pedregosos en la mayor parte del área. Las principales unidades de suelo reportadas son: litosoles, cambisoles cálcicos, y xerosoles cálcicos. La clasificación del clima de acuerdo con la clasificación de Köppen modificado por García (1973) es seco semicálido, con lluvias de verano (BSohw), con poca oscilación térmica que varía entre 5 y 7 °C, y la temperatura media fluctúa entre 17.6 y 23.7 °C. El mes más caliente se presenta antes del solsticio de verano, con régimen de lluvias de verano, presencia de una canícula a mitad del periodo de lluvias y con una precipitación media anual de 412.4mm (López *et. al.* 2003). La comunidad vegetal dominante en la zona es el matorral xerófilo, en el que dominan las tetecheras por la presencia de *Neobuxbaumia tetetzo* (tetecho), complementado con otros elementos florísticos importantes tales como: *Prosopis laevigata* (mezquite), *Fouquieria formosa* (ocotillo), *Cercidium praecox* (palo verde) y *Beucarnea gracilis* (sotolín) (Valiente-Banuet y Arizmendi 1998; citados en López *et. al.* 2003).



**Mapa 1.-** Ubicación de la subcuenca de Zapotitlán Salinas, Puebla.

## 9.0 MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo los objetivos planteados se realizó lo siguiente:

### 9.1 Obtención del material vegetal

Las colectas se realizaron en seis salidas llevadas a cabo de la siguiente manera: 26-28 de septiembre, 31 de octubre y 1 de noviembre del año 2003; 30 y 31 de enero, 30 y 31 de abril, 24-26 de junio y; 23 y 24 de septiembre correspondientes al año 2004. Por lo que los experimentos se llevaron a cabo a diferentes fechas y, por tanto diferentes estados fenológicos (Tabla 1).

Se obtuvieron los esquejes de las tres especies de plantas en la zona de estudio, cortándolos en las partes jóvenes. Los esquejes se colocaron en bolsas de plástico y se trasladaron en una hielera para conservar su humedad. Llegando al laboratorio se mantuvieron en un cuarto frío a una temperatura de 4°C. y en oscuridad hasta su utilización. Posteriormente se prosiguió a obtener esquejes apicales de 15 a 25 cm aproximadamente.

| Especies                  | Concentraciones |       |       | Modo de aplicación | Manipulación | Manipulación | Concentración de AIA |
|---------------------------|-----------------|-------|-------|--------------------|--------------|--------------|----------------------|
|                           | 100             | 200   | 500   |                    |              |              |                      |
| <i>Mimosa luisana</i>     |                 | Fruto |       |                    |              |              |                      |
| <i>Cercidium praecox</i>  | Fruto           | Flor  | Fruto |                    |              |              |                      |
| <i>Prosopis laevigata</i> |                 |       |       |                    | Flor         | Fruto        |                      |

I

| Especies                  | Meses del año |         |       |           |       |       |       |        |            |                   |           |           |
|---------------------------|---------------|---------|-------|-----------|-------|-------|-------|--------|------------|-------------------|-----------|-----------|
|                           | enero         | febrero | marzo | abril     | mayo  | junio | julio | agosto | septiembre | octubre           | noviembre | diciembre |
| <i>Mimosa luisana</i>     |               |         |       | Sin hojas |       | Flor  | Flor  |        | Fruto      |                   |           |           |
| <i>Cercidium praecox</i>  |               | Flor    | Flor  | Fruto     | Fruto |       |       |        | Flor       |                   |           |           |
| <i>Prosopis laevigata</i> | Sin hojas     |         | Flor  | Flor      | Flor  | Fruto | Fruto | Fruto  |            | Verde y con hojas |           |           |

II

**Tabla 1.-** La tabla I muestra la fecha de colecta, el estado fenológico que se ha reportado y el tipo de experimento que se realizó. La tabla II muestra el estado fenológico que se ha reportado para las diferentes especies a través del año.

### 9.2 Aplicación exógena de los reguladores auxínicos

Los esquejes de las plantas colectadas fueron divididos en cuatro grupos por cada especie: uno con AIA, otro con AIB y un tercero con  $p\text{-NO}_2\text{FAIA}$ , los cuales se aplicaron en tres concentraciones: 100, 200 y 500 ppm, se usó talco inerte como vehículo para su aplicación. El cuarto grupo fue el control, el cual solo tuvo talco inerte. La aplicación consistió en meter la base del esqueje en las

mezclas de talco e inmediatamente se sembraron. Los cuatro grupos se colocaron en almácigos con un substrato de peat-moss, tierra negra y agrolita (2:1:1 y 2:2:1 partes) con un pH de 5; el peat-moss y la tierra negra se estilizaron en una olla de presión (12 °C y 1.05 kg/cm<sup>2</sup>) por 15 minutos. Los esquejes se desinfectaron primero con Tritón al 0.1% y después con hipoclorito de sodio al 1%, sumergidos durante 5min en cada disolución y enjuagados con abundante agua. Antes de ser aplicados los tratamientos, se les realizó un corte en la base y se retiró corteza (aproximadamente 0.5 cm) a cada esqueje para después ser plantados (Fig. 11).



**Figura 11.-** Imagen de esquejes de *Prosopis laevigata* colocados en los almácigos durante el periodo de tratamiento.

Por otra parte, se evaluó el modo de aplicación de los tratamientos. Para cada especie se formaron tres grupos: uno con AIB, otro con  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  y el grupo control. Estos tratamientos fueron aplicados en talco (como se describió anteriormente) y en disolución, a una sola concentración, 100 ppm. Para los tratamientos aplicados en disolución, primero se prepararon las disoluciones de AIB y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  en 10 ml de etanol, y después se aforó a 100 ml con agua destilada. Ya preparadas las disoluciones, se sumergió la parte basal (aproximadamente 2 cm) de los esquejes en ellas por un periodo de 24 hrs en oscuridad; transcurrido este periodo se colocaron en los almácigos.

En el caso de *Prosopis laevigata* se evaluó además, el efecto de la manipulación continua de los esquejes en un grupo control y uno con  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$ , aplicados en talco a 100ppm, variando solo el tiempo de revisión de los esquejes.

Todos los tratamientos se mantuvieron bajo las mismas condiciones de temperatura a 28 °C, humedad relativa de 70% y riego. Este último, consistió de 20 ml de disolución Hoagland (Dunn y Arditti 1968) en el primer día y posteriormente cada tercer día con 10 ml de agua destilada.

El número de esquejes por tratamiento varió de acuerdo con el material disponible.

Todos los tratamientos se revisaron a las dos semanas después de que se aplicó el tratamiento, de ahí en adelante se hizo la revisión semanal. En el caso de *Prosopis laevigata*, para evaluar la manipulación de los esquejes, se hicieron dos revisiones solamente (2 y seis semanas).

Para todas las revisiones se obtuvo el número de esquejes enraizados (considerando un esqueje enraizado al presentar primordios de raíz) y; el número de primordios y de raíces.

### 9.3 Acodos

Los acodos se realizaron en la zona de estudio y se utilizaron 8 árboles de *Prosopis laevigata*, 7 de *Cercidium praecox* y 5 de *Mimosa luisana*. Para cada árbol se realizaron tres acodos de la siguiente manera: se retiró un poco de corteza de las diferentes ramas, de tal manera que se formaba un anillo, posteriormente se aplicaron los distintos tratamientos y se cubrieron con una mezcla de tierra negra y peat-moss humedecidos; se envolvió la zona tratada con plástico y se sellaron los extremos con cinta canela y se etiquetaron (Fig. 12).

Los tratamientos consistieron en AIB y *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA a 500 ppm y un grupo control; todos aplicados en talco inactivo.



Figura 12.- Un acodo que se realizó en la zona de estudio en *Cercidium praecox*.

### 9.4 Cuantificación de AIAoxidasa por polarografía

#### ➤ Obtención del extracto crudo:

Se tomaron los esquejes necesarios de cada tratamiento, para obtener 5 gr de peso fresco, se hizo un extracto con un medio de homogenización (buffer Tris-HCl 10 mM pH 7.2 con PVP al 1%) en frío; posteriormente se centrifugó el extracto a 14000 rpm durante 5 min y se recuperó el sobrenadante para proceder a cuantificar el consumo de oxígeno y la cantidad de proteínas.

#### ➤ Cuantificación de proteína:

Se empleó la técnica de azul de Coomassie descrita por Bradford (1976) para determinar la cantidad de proteína del extracto crudo, utilizando albúmina sérica de bovino como estándar.

#### ➤ Medición por polarografía:

Se agregaron 100 µl del extracto, el cual se obtuvo de la manera antes descrita, a 1 ml de medio que contenía: buffer de acetato de sodio 100 mM a un pH de 4.2, MnCl<sub>2</sub> 1 mM, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0.1% y; AIA, AIB y *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA a 10 mM. Se cuantificó la disminución del consumo de O<sub>2</sub> disuelto en la celda de reacción, por medio de un electrodo de oxígeno tipo Clark Hansatech Mod. LSI (Kokkinakis

y Brooks 1979). Se corrigió la solubilidad del O<sub>2</sub> para la altura del municipio de Tlalnepantla (2 251 msnm) y considerando una temperatura de 30 °C, correspondiendo a 190 ng átomo de oxígeno/ml.

### **9.5 Cuantificación de AIA por HPLC**

Se realizaron las mediciones de AIA endógeno, sin ningún tratamiento, de las tres especies en estudio; además, en *Prosopis laevigata* se cuantificó el AIA en el transcurso del proceso de enraizamiento de dos grupos: un control y uno con *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA aplicados en talco a 100 ppm.

#### ➤ Obtención del extracto crudo:

Se pesaron 5 gr de tejido en peso fresco y se maceró en 7 ml de metanol. Posteriormente se centrifugó el extracto a 14000 rpm durante 5 min y se recuperó el sobrenadante para proceder a cuantificar el AIA endógeno.

#### ➤ Condiciones del HPLC:

Muestras de 20 µl del extracto obtenido anteriormente se analizaron por cromatografía de líquidos de alta resolución (marca HP, modelo series 1100). La columna utilizada fue Discovery C18, 25 cmx4.5 mm, 5 µm de fase reversa. La fase móvil consistió de acetonitrilo:ácido acético:agua (15:2:83 v:v:v) con un flujo constante de 1 ml/min durante 20 min.

#### ➤ Condiciones del Fluorómetro:

El detector de fluorómetro se ajustó a una longitud de onda de excitación de 280 nm y de emisión 340 nm, con un intervalo de datos de 0.1 y respuesta de tiempo de 6.0 durante 20 minutos, registrándose un tiempo de retención de 5 minutos para el AIA.

Las cuantificaciones se hicieron por detección fluorométrica; con un estándar de AIA (100 µM y 50 µM) de concentración conocida, que se utilizó como referencia determinando la intensidad de la señal a un tiempo de retención que corresponde al AIA de referencia.

### **9.6 Electroforesis en geles de poliacrilamida**

Las electroforesis se llevaron a cabo en geles de poliacrilamida al 12.5%; se utilizó un equipo miniprotean II (Bio-Rad) y se corrieron a 200 V, 50 mA por una hora en TRIS (1X) 2.48 mM, glicina 19.2 mM, pH 8.3.

En cada poza se sembraron 15 microgramos de proteína; para la obtención del patrón isoenzimático de peroxidasas se revelaron con bencidina 3.8 mM, como sustrato se utilizó H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% y acetato de sodio 100 mM a un pH de 4.8.

Para el caso de la obtención del patrón de bandas para AIAoxidasas se revelaron con tres disoluciones: a) 0.6 gr de azul de BB en 15 ml de etanol, b) 4.1 mg de ácido *p*-cumárico en 1 ml de

etanol, 4.4 mg de AIA en 1 ml de etanol, 12.5 ml de agua destilada y 1 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%; y c) acetato de sodio 0.2 M a un pH de 4.2. Mezclados en una proporción de 1:2:1 respectivamente.

### **9.7 Aplicación del análisis estadístico**

Para evaluar el efecto de los tratamientos sobre el enraizamiento de las tres especies, se hizo una comparación de la proporción de enraizamiento mediante una tabla de contingencia, para saber si había diferencias entre los tratamientos; de ser así, se aplicó una prueba de comparación múltiple para proporciones, para encontrar entre que tratamientos si había diferencias (Zar 1984). Este último paso se realizó siempre en comparación a aquel tratamiento con mayor proporción de enraizamiento.

En el caso del análisis de la actividad enzimática, se realizó una prueba de ANOVA de dos vías no paramétrico (Scheirer-Ray-Hare Test) (Dytham 1999). La decisión de utilizar esta prueba se debió a que datos de actividad enzimática eran seudoréplicas, ya que los 5 gr obtenidos para la realización de los extractos, fue a través de varios esquejes de un mismo tratamiento, y de ahí se obtuvo las mediciones; el diseño experimental se limitó debido a la disponibilidad de material y por último, la forma de medición de este parámetro.

## 10.0 RESULTADOS:

### 10.1 Porcentaje de enraizamiento

Transcurridos los tiempos establecidos para cada tratamiento, se observó que en *Mimosa luisana* los mayores porcentajes de enraizamiento ocurrieron a la séptima semana, en un 36% con el tratamiento de  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}_{100\text{ppm}}$ , seguido por un 27% y un 18% en la octava semana con AIB a 100 y 500 ppm respectivamente (Gráfica 1,A); aunque los resultados estadísticos mostraron que no hay diferencias significativas entre ellos ( $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}_{100\text{ppm}}$   $q=1.20$  y  $\text{AIB}_{100\text{ppm}}$   $q= 2.52$ ,  $gl=7$ ,  $p<0.05$ ), y que si las hay con el resto de los tratamientos y los grupos control (Gráfica 2,A). Los tratamientos con  $\text{AIA}_{100\text{ppm}}$ ,  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}_{500\text{ppm}}$  y su grupo control correspondiente, no presentaron enraizamiento durante toda la evaluación. Los tratamientos aplicados a 200 ppm enraizaron antes que aquellos aplicados a 100 y 500 ppm; aunque los mayores porcentajes se obtuvieron con estas últimas concentraciones.

En *Cercidium praecox* los mayores porcentajes de enraizamiento se obtuvieron en la séptima semana con  $\text{AIA}_{500\text{ppm}}$  en un 54% y  $\text{AIB}_{500\text{ppm}}$  con un 45%; seguidos por un 27% en la sexta semana con  $\text{AIA}_{100\text{ppm}}$  (Gráfica 1,B); sin embargo, el estadístico no mostró diferencias significativas entre  $\text{AIB}_{500\text{ppm}}$ ,  $\text{AIA}_{100\text{ppm}}$  y el resto de los tratamientos en comparación con  $\text{AIA}_{500\text{ppm}}$ , a excepción de  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}_{500\text{ppm}}$ , donde si las hubo ( $q=4.8$ ,  $gl=7$ ,  $p<0.05$ )(Gráfica 2,B). Además se observó que a las dos semanas de tratamiento solo  $\text{AIB}_{100\text{ppm}}$  y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}_{500\text{ppm}}$  y un control presentaron enraizamiento, y que todos los tratamientos aplicados a 200 ppm no enraizaron.

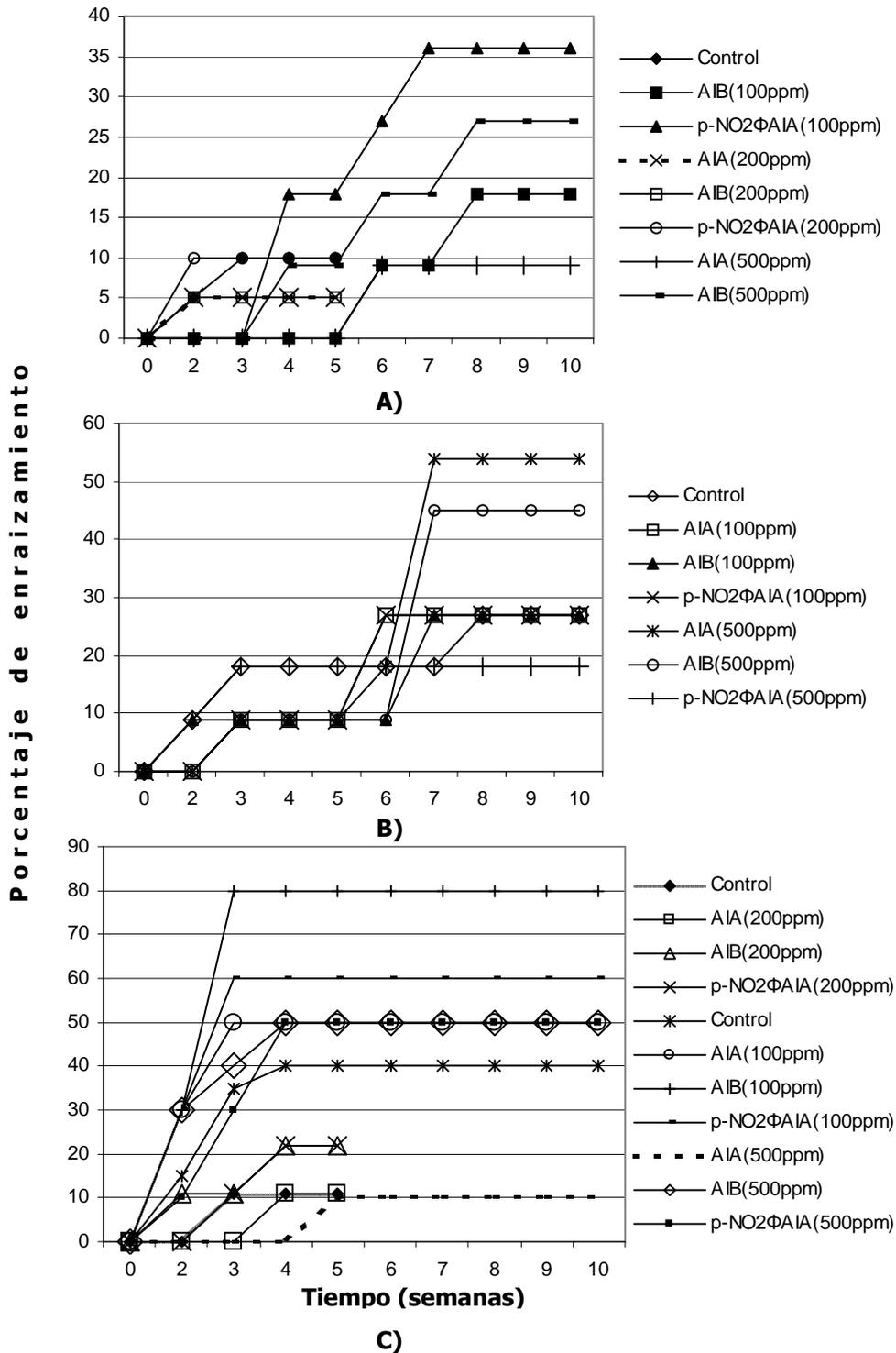
Para *Prosopis laevigata* los mayores porcentajes de enraizamiento se obtuvieron en la tercera semana, con los tratamientos de AIA, AIB y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  a 100 ppm, correspondiendo a un 50, 80 y 60% respectivamente. Estos porcentajes fueron los más altos obtenidos de las tres especies y además se reportaron en un tiempo más corto (Gráfica 1,C). No obstante, no se encontró diferencias significativas entre estos tratamientos, ni con AIB y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  a 500 ppm; con el resto de los tratamientos si se observaron diferencias de manera significativa ( $q=4.84$ ,  $gl=11$ ,  $p<0.05$ ). No hay que olvidar que estas diferencias se hicieron en comparación al tratamiento que obtuvo la mayor proporción de enraizamiento (AIB a 100 ppm) (Gráfica 2,C). Por otro lado, el tratamiento con  $\text{AIA}_{500\text{ppm}}$  no presentó enraizamiento si no hasta la quinta semana de evaluación, el cual fue de un 10% como máximo. Es importante mencionar que todos los tratamientos presentaron enraizamiento en algún momento de la evaluación. Se pudo observar que en esta especie los tratamientos a 100 y 500ppm alcanzaron porcentajes de enraizamiento más altos que a 200 ppm. Como se mencionó en la metodología, en *Prosopis laevigata* se trató de ver el efecto de la manipulación de los esquejes y durante esta evaluación también se midió el porcentaje de enraizamiento. Cuando los esquejes se revisaron a las dos y seis semanas, no se obtuvo enraizamiento; posteriormente cuando se revisaron solo a las seis semanas (anteriormente en este

tiempo se observaron raíces) se obtuvo un 96% y un 100% de enraizamiento, como se observa en la gráfica 3, para el control y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  respectivamente; como se puede ver, la diferencia entre el control y el tratamiento fue escasa. También se midió el porcentaje de enraizamiento cuando se evaluó los niveles de AIA a diferentes tiempos de tratamiento; obteniéndose un mayor porcentaje en el grupo control para la primera evaluación (dos semanas); para la segunda evaluación (seis semanas) se obtuvo un mayor porcentaje de enraizamiento con  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  aunque la diferencia entre éste y el control fue poca (50 y 58% para el control y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  respectivamente) (Gráfica 4).

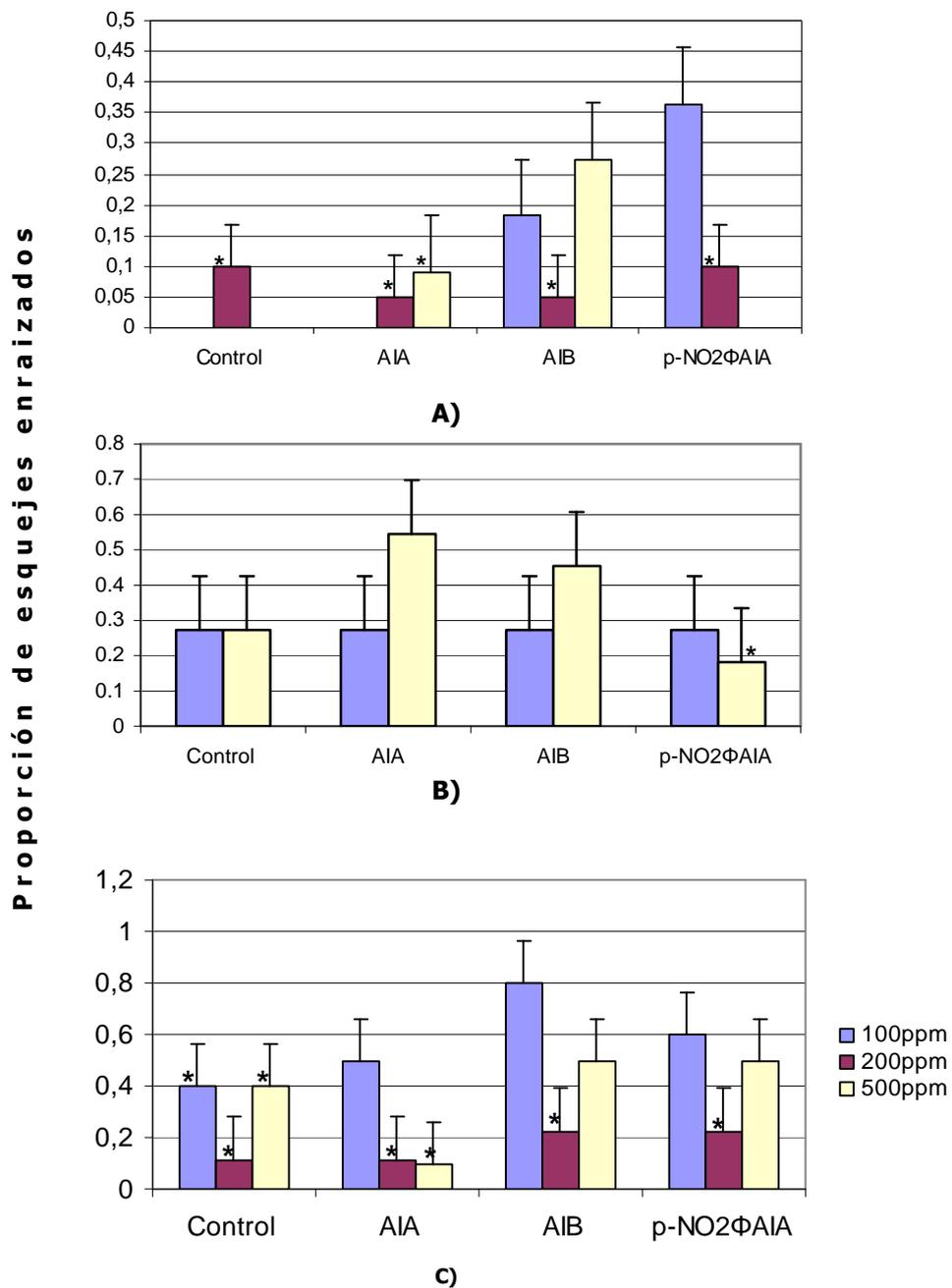
En el modo de aplicación de los tratamientos, para *Mimosa luisana* se obtuvo el mayor porcentaje de enraizamiento en la tercera semana con los tratamientos de AIB y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  aplicados en talco, con un 50% para ambos, como se observa en la gráfica 5A. Cabe mencionar que todos los tratamientos enraizaron desde la primera revisión. Estadísticamente, no se encontró diferencias significativas entre estos tratamientos ( $\chi^2=6.99$ ,  $gl=4$ ,  $p<0.05$ ). Para *Cercidium praecox* (Gráfica 5B), se observó que durante todas las revisiones, los mayores porcentajes de enraizamiento se obtuvieron con AIB aplicado en talco, el cual obtuvo un 57% en la segunda semana, 64% en la tercera y 71% a la cuarta semana; además el tratamiento con  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  aplicado en solución alcanzó un mayor porcentaje de enraizamiento (35%) que el mismo tratamiento aplicado en talco (21%). Para esta especie, se encontró que si existen diferencias significativas en el modo de aplicación de los tratamientos ( $q=5.20$ ,  $gl=5$ ,  $p<0.05$ )(Gráfica 6).

En *Prosopis laevigata* los mayores porcentajes de enraizamiento se presentaron en la segunda semana con AIB y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  aplicados en talco, con un 30 y 10% respectivamente; y con  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  aplicado en solución en un 20% (Gráfica 5,C). Estadísticamente no se encontraron diferencias significativas para los tratamientos ( $\chi^2=6.48$ ,  $gl=4$ ,  $p<0.05$ ).

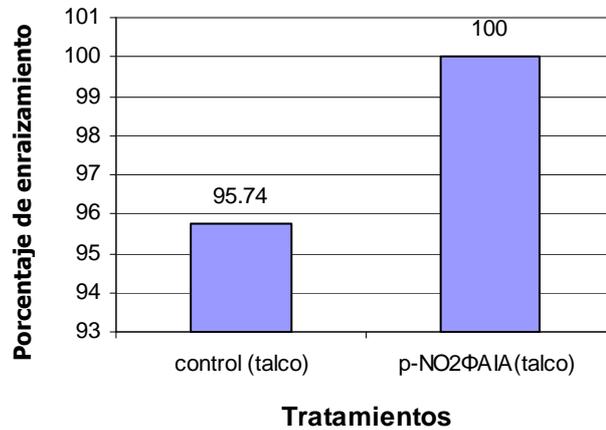
Es importante recordar que para estos tratamientos, no se probó el AIA y que todos los tratamientos fueron aplicados a una sola concentración, a 100 ppm.



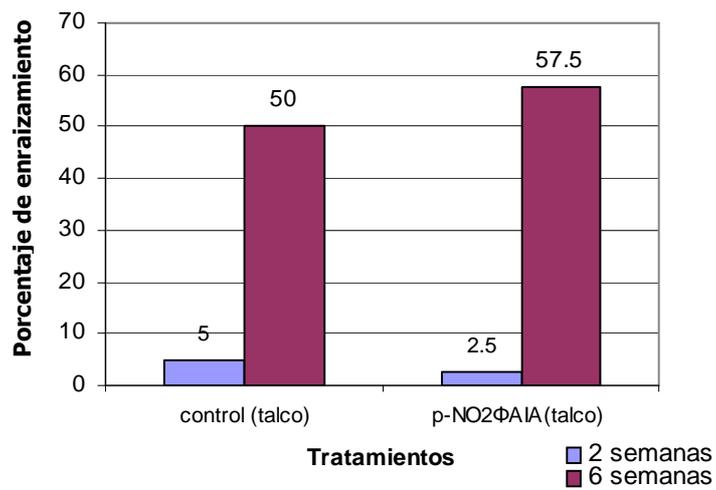
**Grafica 1.-** Porcentaje de enraizamiento de los tratamientos y sus concentraciones obtenidos en A) *Mimosa luisana*, B) *Cercidium praecox* y C) *Prosopis laevigata* durante las distintas revisiones. Aquellos tratamientos que no aparecen, no presentaron enraizamiento.



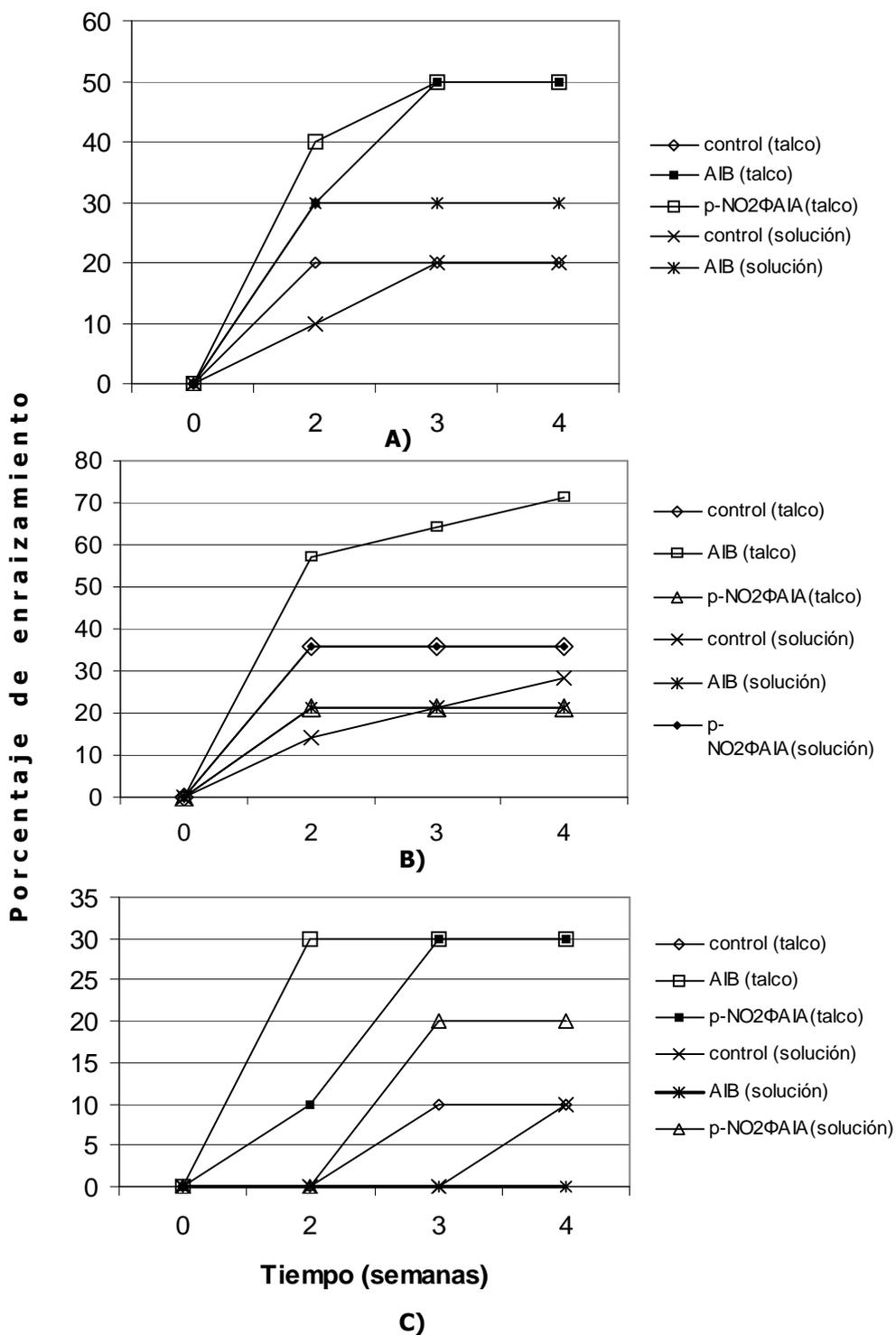
**Gráfica 2.-** Proporción de esquejes enraizados por tratamiento y concentración de *Mimosa luisana* (A), *Cercidium praecox* (B) y *Prosopis laevigata* (C). El \* hace referencia a las diferencias significativas encontradas con respecto a aquel tratamiento que obtuvo la mayor proporción de enraizamiento ( $p < 0.05$ ) con una tabla de contingencia.



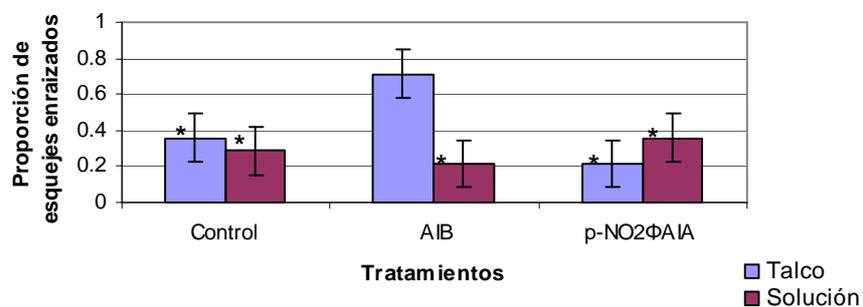
**Grafica 3.-** Porcentaje de enraizamiento obtenido a las seis semanas de evaluación en *Prosopis laevigata*.



**Grafica 4.-** Porcentaje de enraizamiento obtenido a las dos y seis semanas en *Prosopis laevigata*



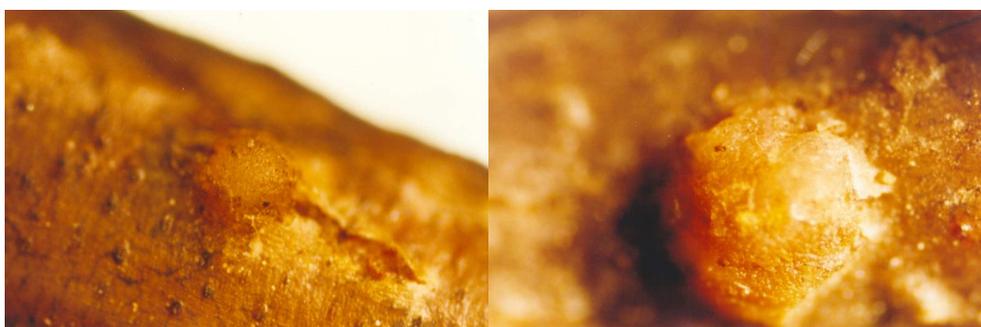
**Grafica 5.-** Porcentaje de enraizamiento obtenido del modo de aplicación de los tratamientos en A) *Mimosa luisana*, B) *Cercidium praecox* y C) *Prosopis laevigata*.



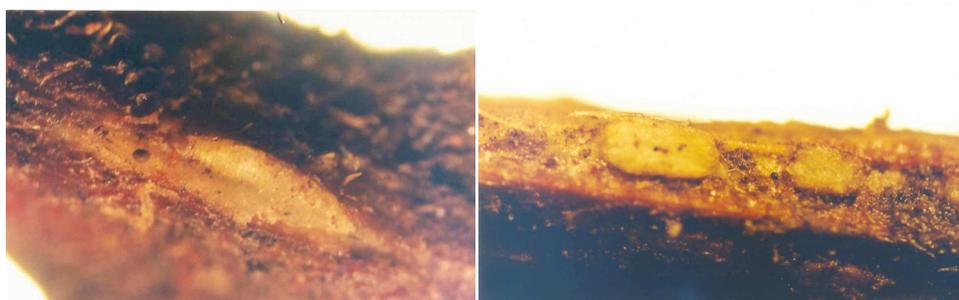
**Gráfica 6.-** Proporción de esquejes enraizados por tratamiento y modo de aplicación de *Cercidium praecox*. El \* hace referencia a las diferencias significativas encontradas con respecto a aquel tratamiento que obtuvo la mayor proporción de enraizamiento ( $p < 0.05$ ) con una tabla de contingencia.

### 10.2 Formación de raíces

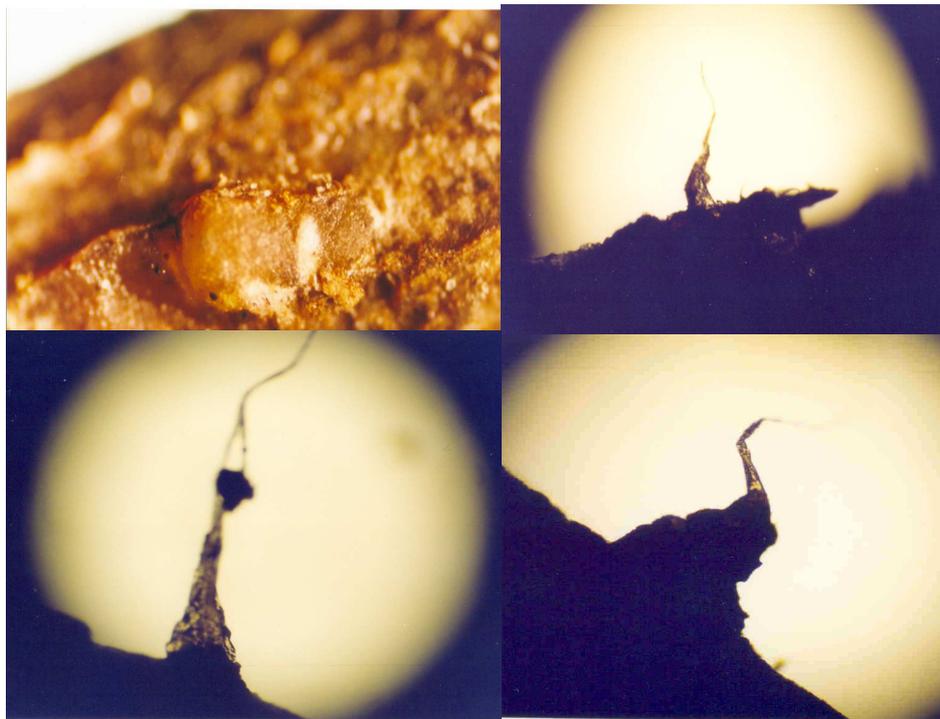
La formación de raíces en los esquejes de *Mimosa luisana* y *Cercidium praecox* no pudo ser observada, pero sí, la presencia de primordios de raíz (Figura 13 A y B). En *Prosopis laevigata* además de los primordios, si se llegó a observar la formación de raíces, la cual ocurrió con los tratamientos de AIA,  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  a 100 ppm y el grupo control y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  a 500 ppm (12, 15, 12, y 5 raíces respectivamente) en un tiempo de seis semanas (Fig. 13 C); pero las raíces no permanecieron en los esquejes.



**A)**



**B)**



C)

**Figura 13.-** Primordios de raíz observados en *Mimosa luisana* (A) y *Cercidium praecox* (B); y primordios y raíces en *Prosopis laevigata*.

### 10.3 Actividad enzimática

*Mimosa luisana* presentó los valores más altos de actividad enzimática de las tres especies (Gráfica 7A). Los tratamientos con AIB y  $p\text{-NO}_2\text{FAIA}$  a 500 ppm (1125.925 y 2220.570  $\mu\text{moles de O}_2/\text{mgmin}$  respectivamente); y el grupo control de 200 ppm (3659.259  $\mu\text{moles de O}_2/\text{mgmin}$ ) fueron los que obtuvieron las cifras más altas en esta especie. En el caso de  $p\text{-NO}_2\text{FAIA}_{100\text{ppm}}$ , no mostró actividad enzimática. En *Cercidium praecox* se encontró que  $\text{AIA}_{200\text{ppm}}$  (1089.333  $\mu\text{moles de O}_2/\text{mgmin}$ ),  $\text{AIB}_{500\text{ppm}}$  (774.073  $\mu\text{moles de O}_2/\text{mgmin}$ ) y  $p\text{-NO}_2\text{FAIA}_{100\text{ppm}}$  (753.978  $\mu\text{moles de O}_2/\text{mgmin}$ ) fueron los tratamientos que mostraron la mayor actividad enzimática con respecto al control (Gráfica 7,B). Por último, en *Prosopis laevigata* se observó que el grupo control y, AIB a 100 y 500 ppm presentaron los valores más altos de actividad enzimática, correspondiendo a 350.659, 328.395 y 481.333  $\mu\text{moles de O}_2/\text{mgmin}$  respectivamente (Gráfica 7,C). Los valores de actividad enzimática de esta especie fueron los más bajos encontrados de las tres especies.

A través del análisis estadístico, no se encontró que existieran diferencias significativas en la actividad enzimática de ninguno de los tratamientos y sus concentraciones en las tres especies (Gráfica 7, tablas A, B y C); aunque observando la gráfica 7, se podría esperar lo contrario. Pero por motivo de diseño, modo de medición, el uso de seudoreplicas, se utilizó una prueba estadística

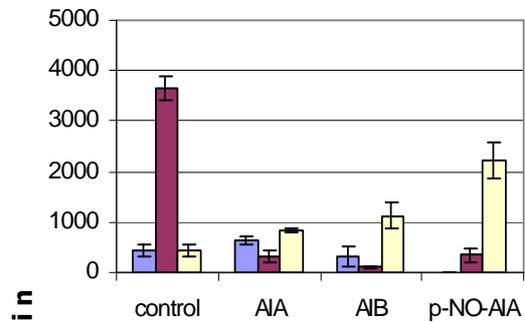
poco poderosa y conservadora que solo marca diferencias significativas cuando estas son muy marcadas.

En la evaluación de la actividad enzimática para el modo de aplicación de los tratamientos, no se obtuvo respuesta en *Mimosa luisana*. En *Cercidium praecox*, los tratamientos y el grupo control aplicados en solución fueron los que obtuvieron los valores más altos, estos valores fueron 661.607, 485.914 y 706.969  $\eta$ moles de  $O_2$ /mgmin para el grupo control, AIB y  $p$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA, respectivamente (Gráfica 8,A). De igual manera, en *Prosopis laevigata* el grupo control y los tratamientos aplicados en solución presentaron los valores más altos de actividad enzimática (Grafica 8,B); el control con 661.607  $\eta$ moles de  $O_2$ /mgmin, AIB con 485.919  $\eta$ moles de  $O_2$ /mgmin y  $p$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA con 706.969  $\eta$ moles de  $O_2$ /mgmin. Estadísticamente no se obtuvieron diferencias significativas (Gráfica 8, tablas A y B).

#### **10.4 Concentración de AIA endógeno**

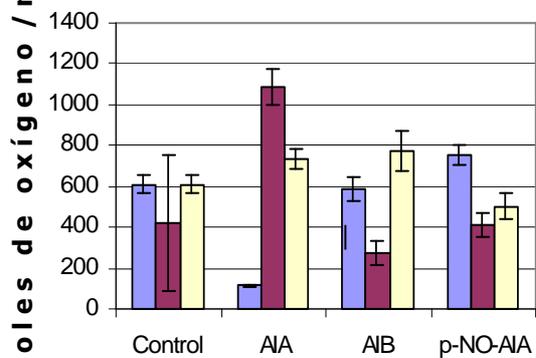
La concentración de AIA endógeno basal fue de 0.5207  $\mu$ M AIA/grpf para *Mimosa luisana*, siendo la más baja de las tres especies, seguido por *Cercidium praecox* con 0.8407  $\mu$ M AIA/grpf y *Prosopis laevigata*, con el valor más alto igual a 2.826  $\mu$ M AIA/grpf (Tabla 2).

En el caso de *Prosopis laevigata* se hicieron, además, mediciones a diferentes tiempos de aplicados los tratamientos. Los resultados fueron: al tercer día de tratamiento el grupo control y  $p$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA mostraron concentraciones similares de AIA, los cuales fueron de 1.492 y 1.379  $\mu$ M AIA/grpf respectivamente; posteriormente, al octavo día se observó una disminución en la concentración en el grupo control y un aumento para  $p$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA. Por último, a los catorce días de evaluación se observó un aumento en el grupo control y  $p$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA; pero en este último el aumento fue menor con respecto a la medición anterior (Grafica 9).



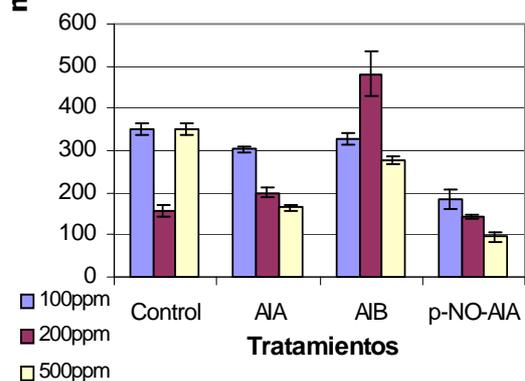
|                              | ss   | ss/ms tot | gl | p   |
|------------------------------|------|-----------|----|-----|
| <b>Hormona</b>               | 2046 | 4.5461054 | 3  | 0.2 |
| <b>Concentración</b>         | 458  | 1.0176521 | 2  | 0.6 |
| <b>Hormona+concentración</b> | 1269 | 2.8196518 | 6  | 0.8 |

**A**



|                              | ss   | ss/ms tot | gl | p   |
|------------------------------|------|-----------|----|-----|
| <b>Hormona</b>               | 117  | 0.4560745 | 2  | 0.8 |
| <b>Concentración</b>         | 222  | 0.8653721 | 2  | 0.7 |
| <b>Hormona+concentración</b> | 1124 | 4.3814336 | 4  | 0.4 |

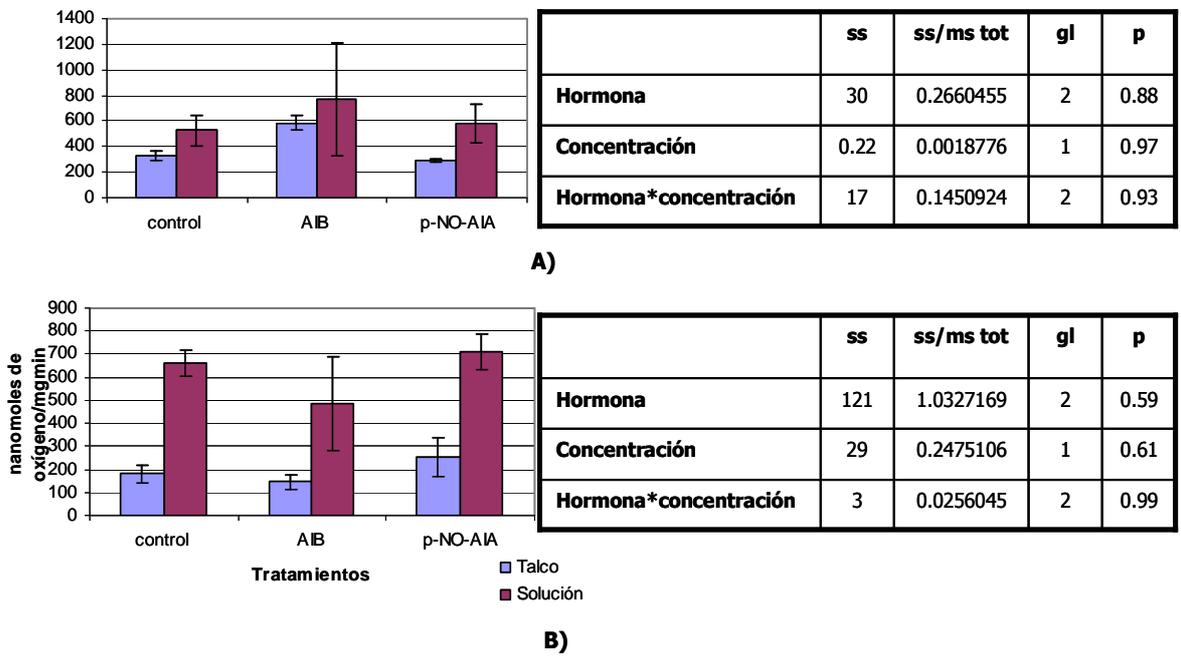
**B)**



|                              | ss     | ss/ms tot | gl | p    |
|------------------------------|--------|-----------|----|------|
| <b>Hormona</b>               | 149.9  | 0.3330699 | 3  | 0.95 |
| <b>Concentración</b>         | 290.8  | 0.6461424 | 2  | 0.72 |
| <b>Hormona+concentración</b> | 3022.8 | 6.7165041 | 6  | 0.35 |

**C)**

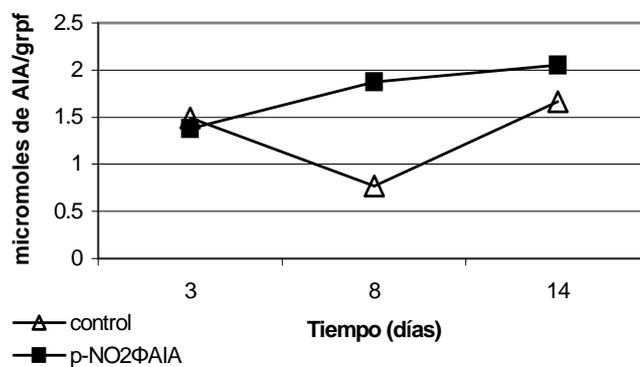
**Grafica 7.-** En el lado izquierdo se observa la evaluación de la actividad enzimática (a la segunda semana) de los tratamientos y concentraciones, y del lado derecho, las tablas de resultados de la prueba de ANOVA de dos vías no paramétrica ( $p > 0.05$ ) de A) *Mimoso luisana*, B) *Cercidium praecox* y C) *Prosopis laevigata*



**Grafica 8 .-** En el lado izquierdo se observa la evaluación de la actividad enzimática (a la segunda semana) de los tratamientos y concentraciones, y del lado derecho, las tablas de resultados de la prueba de ANOVA de dos vías no paramétrica ( $p > 0.05$ ) de A) *Cercidium praecox* y B) *Prosopis laevigata*.

| Especie                   | Concentración de AIA ( $\mu\text{M}$ ) |
|---------------------------|--|
| <i>Mimosa luisana</i>     | 0.5267                                 |
| <i>Prosopis laevigata</i> | 2.8262                                 |
| <i>Cercidium praecox</i>  | 0.8407                                 |

**Tabla 2.-** Concentración de AIA endógeno basal por gramo de peso fresco de las tres especies trabajadas.



**Grafica 9.-** Concentración de AIA endógeno en  $\mu\text{M}/\text{grpf}$  de *Prosopis laevigata* durante el proceso de enraizamiento.

### **10.5 Expresión de peroxidasas y de AIAoxidasas**

La expresión de peroxidasas en *Mimosa luisana* mostró la presencia de 5 isoenzimas totales, de las cuales 3 son catiónicas y 2 son aniónicas. Dos de las isoenzimas catiónicas se expresan en todos los tratamientos y en el grupo control, a excepción del tratamiento de AIA<sub>500ppm</sub>; además solo en éste tratamiento y en *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA<sub>100ppm</sub> se presentó la tercera isoenzima catiónica. Las dos isoenzimas aniónicas se observaron juntas en *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA<sub>500ppm</sub>; no se expresaron en AIB y el grupo control aplicados en talco, y en AIB y *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA a 200 ppm. En los demás tratamientos solo se expresó una de las dos (Tabla 3A). En cuanto a las AIAoxidasas expresadas, se encontró la misma secuencia de bandas para todos los tratamientos, correspondiendo a la expresión de dos isoenzimas diferentes (isoenzimas A1 y A2 de la tabla 3A); estas bandas se observaron más intensas para los tratamientos a 100 y 500 ppm.

Para *Cercidium praecox* fue un total de 13 isoenzimas con actividad de peroxidasa, de las cuales 6 catiónicas y 7 aniónicas. Las 6 isoenzimas cationicas se encuentran en AIA<sub>200ppm</sub>, AIB<sub>100ppm</sub> y en el grupo control de la aplicación en talco, solo una se observó en AIA<sub>100ppm</sub>; en los demás tratamientos se expresaron de dos a tres isoenzimas de manera diferente. De las 7 aniónicas, seis se expresaron en AIA<sub>200ppm</sub>, una de ellas solo se observó en el grupo control, y las demás se expresaron de manera diferente de una a cuatro por tratamiento (Tabla 3B). Del total de isoenzimas de peroxidasa, 5 tuvieron actividad de AIAoxidasa, 3 se presentaron en AIB aplicado en talco (B2, B3 y B4 de la tabla 3B), una en AIB aplicado en solución (B3de la tabla 3B) y la última en *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA aplicado en solución (B8 de la tabla 3B).

Por último, en *Prosopis laevigata* hubo la expresión de 9 isoenzimas diferentes con actividad de peroxidasas, de las cuales 4 son catiónicas y 5 aniónicas. Las cuatro isoenzimas catiónicas se observaron en todos los tratamientos y en grupo control. De las cinco aniónicas, cuatro de ellas se observaron de igual manera en los tratamientos con AIA, AIB y *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA a 100 ppm; de estas mismas cuatro, tres se presentaron además en el tratamiento de AIB aplicado en talco; en este tratamiento, junto con *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA aplicado igualmente en talco y, para el control y AIB aplicados en solución se expresó la quinta isoenzima aniónica (Tabla 3C).

En la expresión de isoenzimas con actividad de AIAoxidasa se encontraron solo 2, las cuales fueron catiónicas. En las tres concentraciones se expresaron las dos isoenzimas de igual manera para todos los tratamientos. En los tratamientos con talco solo se expresaron una de las isoenzimas y en los tratamientos aplicados en solución, los dos tipos (isoenzimas C1 y C2 de la tabla 3C).

|    | Control | MODO DE APLICACIÓN |     |     |     |     |     |                        |     |     |         |     |                        |          |     |  |
|----|---------|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------------------------|-----|-----|---------|-----|------------------------|----------|-----|--|
|    |         | AIA                |     |     | AIB |     |     | p-NO <sub>2</sub> ΦAIA |     |     | Talco   |     |                        | Solución |     |  |
|    |         | 100                | 200 | 500 | 100 | 200 | 500 | 100                    | 200 | 500 | Control | AIB | p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | Control  | AIB |  |
| A1 | ✧       | ✧                  | ✧   |     | ✧   | ✧   | ✧   | ✧                      | ✧   | ✧   | ✧       | ✧   | ✧                      | ✧        | ✧   |  |
| A2 | ✧       | ✧                  | ✧   |     | ✧   | ✧   | ✧   | ✧                      | ✧   | ✧   | ✧       | ✧   | ✧                      | ✧        | ✧   |  |
| A3 |         |                    |     | ✧   |     |     |     | ✧                      |     |     |         |     |                        |          |     |  |
| A4 |         |                    |     | ✧   |     |     |     | ✧                      |     |     |         |     |                        | ✧        |     |  |
| A5 |         |                    |     |     |     |     |     |                        |     |     |         |     |                        |          | ✧   |  |

A)

|     | Control | MODO DE APLICACIÓN |     |     |     |     |     |                        |     |     |         |     |                        |          |     |                        |
|-----|---------|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------------------------|-----|-----|---------|-----|------------------------|----------|-----|------------------------|
|     |         | AIA                |     |     | AIB |     |     | p-NO <sub>2</sub> ΦAIA |     |     | Talco   |     |                        | Solución |     |                        |
|     |         | 100                | 200 | 500 | 100 | 200 | 500 | 100                    | 200 | 500 | Control | AIB | p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | Control  | AIB | p-NO <sub>2</sub> ΦAIA |
| B1  |         |                    | ✧   | ✧   | ✧   | ✧   | ✧   | ✧                      | ✧   | ✧   | ✧       | ✧   | ✧                      |          | ✧   | ✧                      |
| B2  |         | ✧                  | ✧   | ✧   | ✧   | ✧   | ✧   | ✧                      | ✧   | ✧   | ✧       | ✧   | ✧                      | ✧        | ✧   | ✧                      |
| B3  |         |                    | ✧   | ✧   | ✧   | ✧   | ✧   | ✧                      | ✧   | ✧   | ✧       | ✧   | ✧                      |          | ✧   | ✧                      |
| B4  |         |                    | ✧   | ✧   | ✧   | ✧   | ✧   |                        | ✧   |     | ✧       | ✧   |                        |          |     |                        |
| B5  |         |                    | ✧   | ✧   | ✧   | ✧   | ✧   |                        |     |     | ✧       | ✧   |                        |          |     |                        |
| B6  |         |                    | ✧   |     | ✧   | ✧   |     |                        |     |     | ✧       | ✧   |                        |          |     |                        |
| B7  |         |                    | ✧   |     | ✧   | ✧   |     |                        |     |     | ✧       |     |                        |          |     |                        |
| B8  |         |                    | ✧   |     | ✧   | ✧   | ✧   |                        |     |     | ✧       | ✧   | ✧                      | ✧        | ✧   | ✧                      |
| B9  |         | ✧                  | ✧   | ✧   |     |     |     | ✧                      |     | ✧   |         | ✧   |                        |          |     |                        |
| B10 | ✧       |                    | ✧   |     | ✧   | ✧   |     |                        | ✧   |     |         | ✧   |                        |          | ✧   |                        |
| B11 | ✧       |                    | ✧   |     | ✧   | ✧   |     |                        | ✧   |     |         | ✧   |                        | ✧        | ✧   |                        |
| B12 | ✧       |                    | ✧   |     | ✧   | ✧   |     |                        |     |     |         | ✧   |                        |          |     |                        |
| B13 | ✧       |                    |     |     |     |     |     |                        |     |     |         |     |                        |          |     |                        |

B)

|    | Control | MODO DE APLICACIÓN |     |     |     |     |     |                        |     |     |         |     |                        |          |     |
|----|---------|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------------------------|-----|-----|---------|-----|------------------------|----------|-----|
|    |         | AIA                |     |     | AIB |     |     | p-NO <sub>2</sub> ΦAIA |     |     | Talco   |     |                        | Solución |     |
|    |         | 100                | 200 | 500 | 100 | 200 | 500 | 100                    | 200 | 500 | Control | AIB | p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | Control  | AIB |
| C1 | ✧       | ✧                  | ✧   | ✧   | ✧   |     | ✧   | ✧                      | ✧   | ✧   | ✧       | ✧   | ✧                      |          |     |
| C2 | ✧       |                    | ✧   |     |     |     |     |                        | ✧   |     | ✧       | ✧   |                        |          |     |
| C3 | ✧       |                    | ✧   |     |     |     |     |                        |     |     | ✧       | ✧   |                        |          |     |
| C4 | ✧       |                    | ✧   |     |     |     |     |                        |     |     | ✧       | ✧   |                        |          |     |
| C5 |         |                    | ✧   |     |     | ✧   |     |                        |     |     |         | ✧   |                        |          |     |
| C6 |         |                    |     |     |     | ✧   |     |                        |     |     |         |     |                        |          |     |
| C7 |         |                    |     |     |     | ✧   |     |                        |     |     |         |     |                        |          |     |
| C8 |         |                    |     |     |     | ✧   |     |                        |     |     |         |     |                        |          |     |
| C9 |         |                    |     |     |     |     |     |                        |     |     |         | ✧   | ✧                      | ✧        | ✧   |

C)

**Tabla 3.-** Tablas de las isoenzimas de peroxidasa encontradas en *Mimosa luisana* (A), *Cercidium praecox* (B) y *Prosopis laevigata* (C). El ✧ indica la presencia de la isoenzima, por lo que donde no se encuentra el símbolo es porque hubo ausencia

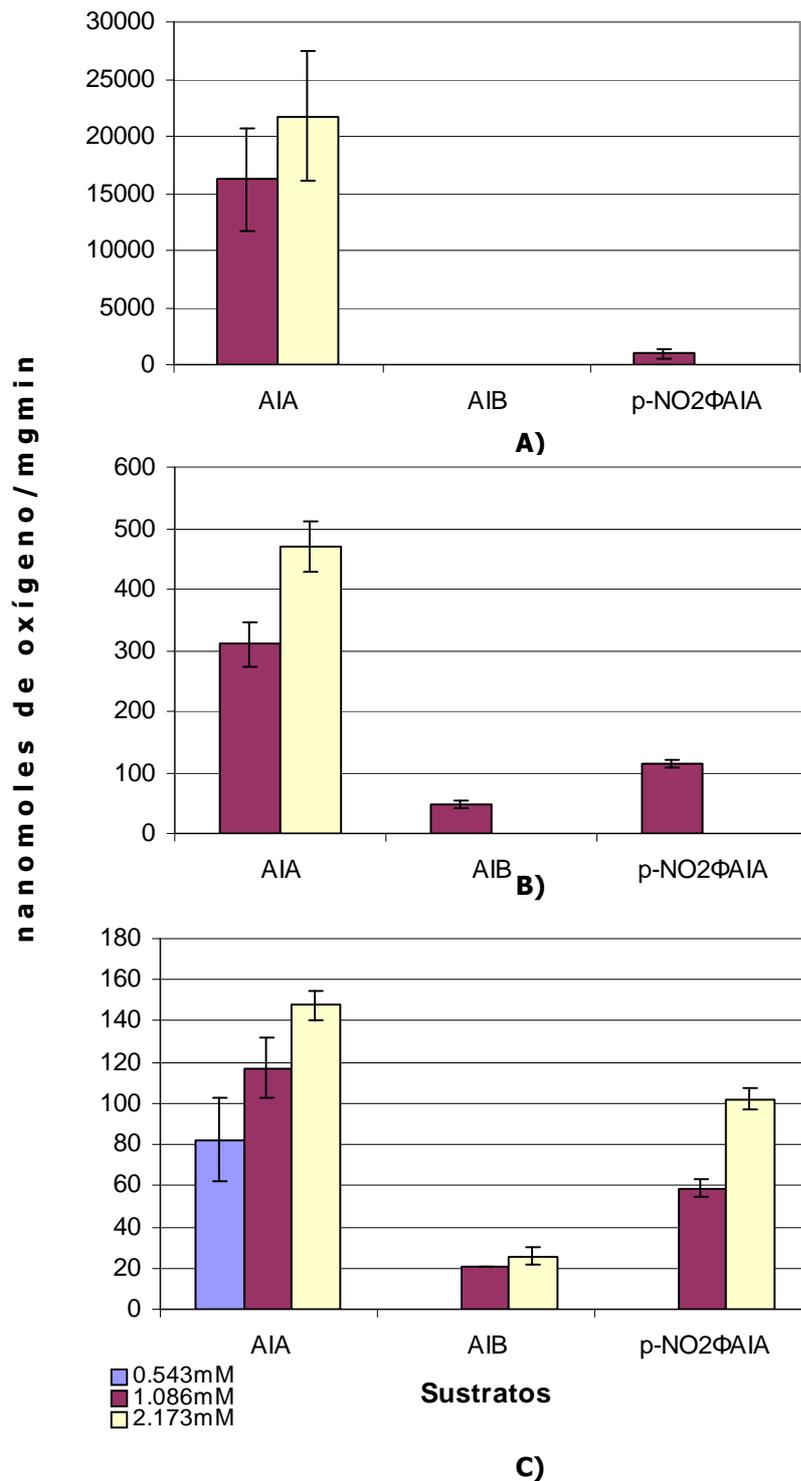
## **10.6 Acodos**

En *Mimosa luisana*, de los 15 acodos realizados, solo en dos se observó la presencia de primordios, los cuales fueron con los tratamientos AIB y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$ ; correspondiendo a un mismo árbol. En *Cercidium praecox* no hubo presencia de primordios; y en *Prosopis laevigata* solo en dos árboles se observaron primordios de raíz en un acodo del grupo control y dos acodos para cada uno de los tratamientos, AIB y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$ .

## **10.7 Afinidad de la AIAoxidasa**

Finalmente, fue posible evaluar en las tres especies, la afinidad de la AIAoxidasa por los diferentes sustratos (10 mM), y en distintas cantidades. Para las tres especies se pudo observar una alta afinidad por el sustrato de AIA, además que a medida que se aumentaba la cantidad de éste sustrato aumentaba la actividad. En el caso de AIB, se observó que hay poca afinidad por este sustrato en comparación con AIA; la afinidad de AIB fue nula en *Mimosa luisana* y mayor en *Cercidium praecox*. Con el sustrato de  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  también se obtuvo una menor afinidad con respecto a AIA, siendo mayor la afinidad por éste sustrato en *Mimosa luisana* y menor en *Prosopis laevigata* (Gráfica 10).

Es importante mencionar, que además de los resultados anteriores, *Mimosa luisana* presentó los valores más altos y *Prosopis laevigata* los valores más bajos de actividad enzimática por afinidad con distintos sustratos.



**Grafica 10.-** Actividad enzimática obtenida con diferentes sustratos y concentraciones en *Mimosa luisana* (A), *Cercidium praecox* (B) y *Prosopis laevigata* (C).

## 11.0 DISCUSIÓN

*Mimosa luisana*, *Cercidium praecox* y *Prosopis laevigata* son tres especies nativas importantes, dentro de las regiones áridas y semiáridas del país, debido al papel biológico que desempeñan, principalmente como plantas nodrizas; además de tener utilidad, para la gente local. Estas características las hacen buenas candidatas para su propagación y para su uso en la restauración de los ambientes que habitan, ya que como lo mencionan Vásquez y Batis (1996), el uso de plantas herbáceas y leñosas nativas, es una buena alternativa para la restauración de ambientes degradados, mencionando también que las mejores plantas para llevar a cabo la restauración deben tener otras características, como algún uso, además de su papel biológico, para que tengan éxito.

No existe suficiente información acerca de la propagación vegetativa de estas especies; sin embargo es muy común encontrar información en cuanto al uso de este tipo de propagación en plantas leñosas, como en manzanos, árboles de pera, cultivos leñosos, claveles, crisantemos, etc. (Pierik 1990; datos no publicados de nuestro laboratorio). Por otro lado, se menciona que las especies leñosas son muy difíciles de clonar *in vitro*, debido a que su capacidad de regeneración es débil, presentan dormancia, entre otras características que dificultan su propagación de esta manera (Pierik, 1990).

Por otro lado, la formación de raíces adventicias no es un solo proceso de desarrollo (Peñalosa, 1998) sino que debe ser considerado como una serie de pasos interdependientes sucesivos, generalmente llamados inducción, iniciación y expresión (Gaspar 1994 y 1992 citados en Waisel *et al*; 2002); las cuales a su vez tienen diferentes requerimientos para llevarse a cabo (De Klerk *et al*; 1995). Con base en ello, la presencia de primordios de raíz y la no formación de raíces adventicias, pudo ser a causa de que se alcanzaron los niveles óptimos de auxina y otros factores, para los procesos de inducción (considerado como el tiempo necesario para que se lleven a cabo los eventos bioquímicos que preceden la iniciación) e iniciación (como el proceso de división celular que lleva a la formación de primordios de raíz), pero no así para la fase de expresión en *Mimosa luisana* y *Cercidium praecox*. En *Prosopis laevigata* si se completó el enraizamiento, observando la presencia de algunas raíces, pero la no permanencia de las raíces formadas, pudo deberse también al efecto de sacar y meter los esquejes de los almácigos semanalmente, y de esta manera afectar a las raíces ya formadas. Además de que la manipulación de los esquejes si influyó en el enraizamiento (Graf. 3 y 4).

Los resultados obtenidos en este trabajo, sugieren que los reguladores de crecimiento vegetal, como *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA, en 100 ppm, promueve mejor la fase de iniciación e inducción del enraizamiento, en *Mimosa luisana*, que AIA y AIB, ya que obtuvo el mayor porcentaje de enraizamiento en un menor tiempo. Por otra parte, el AIB también promueve el enraizamiento en

esta especie, en concentraciones de 100 y 500 ppm, pero el porcentaje es menor y se da una semana después que con  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}_{100\text{ppm}}$ ; aunque no hay diferencias significativas entre estos tratamientos. También se ha observado un mayor porcentaje de enraizamiento con  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  en comparación con AIB, aplicados a especies semileñosas como el crisantemo y el clavel, atribuyendo esto a que es probable que el derivado tal vez active un gran número de células generadoras de raíz y potencialmente aumenta la promoción de raíces adventicias (datos no publicados de nuestro laboratorio).

El hecho de que los tratamientos con  $\text{AIA}_{100\text{ppm}}$  y  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}_{500\text{ppm}}$  no promovieran el enraizamiento y que  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}_{200\text{ppm}}$  lo hiciera solo en un 10%, podría indicar que es bueno  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$  a una concentración de 100 ppm, para esta especie; ya que el AIA, como la principal hormona natural y, como un proceso de regulación de su concentración, fue altamente oxidada; en contraste,  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$ , al no ser una hormona natural, no es reconocida por el sistema de oxidación, por lo que no es degradada tan rápidamente (Gráfica 10 A) y permite que se alcance la concentración necesaria para las fases de iniciación e inducción del enraizamiento; otro aspecto es, que las cantidades de hormona son requeridas en bajas concentraciones, por lo que el uso de  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}_{500\text{ppm}}$ , pudo haber sido un exceso de hormona, y bloqueando así, la iniciación del enraizamiento. Aunque en la gráfica 8, no se puede observar que  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}_{100\text{ppm}}$  tenga una menor actividad de AIAoxidasa que  $\text{AIA}_{100\text{ppm}}$  a las dos semanas de enraizamiento, es importante decir que esto puede ser a causa de los cambios hormonales ocurridos dentro del proceso de enraizamiento; pero al observar la gráfica 10, podemos ver que hay una mayor afinidad por el AIA que por  $p\text{-NO}_2\Phi\text{AIA}$ , y que estos datos corresponden a plantas sin ningún tratamiento.

El efecto de la actividad de la AIAoxidasa, es un proceso de la regulación de la concentración de AIA porque favorece la disminución de la concentración hormonal libre, por lo que es de esperarse que, al obtener altos valores de actividad enzimática, se tenga una baja concentración de AIA endógeno basal en *Mimosa luisana*, como se observa en la tabla 1.

Las auxinas naturales, en una concentración de 500 ppm, para *Cercidium praecox*, promueven de mejor manera el enraizamiento, ya que los mayores porcentajes de enraizamiento se obtuvieron con AIA y AIB aplicados a 500 ppm, y cuando se aplicaron en 100 ppm, si hay enraizamiento, pero es menor. Sin embargo, el no enraizamiento de los tratamientos aplicados a 200 ppm no se ajusta a este hecho, ya que por el número de esquejes requeridos, los experimentos se realizaron en diferente época; además de que la época de colecta de los esquejes también pudo haber influenciado este resultado. Otro factor que también influyó, de manera particular, es el que el tratamiento de  $\text{AIA}_{200\text{ppm}}$  tuvo una alta actividad enzimática de AIAoxidasa; y por lo tanto, fue altamente degradado como lo muestra la gráfica 8B, lo cual no permitió alcanzar los umbrales necesarios para la inducción del enraizamiento.

Considerando el hecho de que Labrada (2005), solo en una de las 7 combinaciones que utilizó de ANA y AIB con BAP, para promover el enraizamiento de forma *in vitro*, y mencionando que el enraizamiento fue bajo (solo se observó un brote enraizado de epicótilo) en *Cercidium praecox*, nos permite decir que la propagación por esquejes es un método más eficiente, rápido y barato para su propagación.

Mucho se ha hablado acerca de la respuesta diferencial de las especies en enraizamiento, a los diferentes tratamientos auxínicos. Mencionando que las respuestas fisiológicas a las hormonas no pueden ser explicadas bajo el efecto de un solo factor, ya que existen numerosas evidencias de la interacción (antagónica o sinérgica) entre hormonas o con otras sustancias (Waisel *et al.*; 2002), además de que el transporte, la biosíntesis y la sensibilidad de las células a las auxinas, también varía entre especies y pueden determinar la habilidad de enraizamiento de las mismas (Ford *et al.*; 2001; Woodward *et al.*; 2005).

Con lo anterior, se puede hablar de la sensibilidad de las células a la auxina, como un probable factor, para los resultados antes descritos; ya que se produjo un enraizamiento a 100 y 500 ppm; por otro lado, si se considera que el transporte de AIA y AIB es similar, de 8 a 10 mm por hora (Rashote y Poupart 2003), y que el AIB puede actuar vía su conversión a AIA a través de la  $\beta$ -oxidación (Zolman, 2001 citado en Rashote y Poupart 2003; Woodward *et al.*; 2005), se puede decir que el AIA en una concentración de 500 ppm permite alcanzar los umbrales necesarios para que se lleven a cabo las fases de iniciación e inducción del enraizamiento en *Cercidium praecox*. En los trabajos de Marks y Simpson (2000), también atribuyen sus resultados a la sensibilidad de las células, mencionando que la inducción de raíces en *Syringa vulgaris* (difícil enraizamiento) fue claramente polar, respondiendo mejor a la aplicación de AIB en el extremo distal del internodo, mientras que *ForsythiaXintermedia* (fácil enraizamiento) fue igualmente sensible a la aplicación de AIB aplicado en cualquier extremo; y que los internodos de la especie de fácil enraizamiento fueron más sensibles, y desarrollaron raíces después de la aplicación de 3  $\mu$ M de AIB a los extremos distal y proximal, mientras que la planta de difícil enraizamiento requirió de la aplicación de 30  $\mu$ M de AIB en el extremo distal.

El que el tratamiento de  $p$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA no tuviera los mayores porcentajes de enraizamiento en comparación con AIA y AIB en esta especie, como podría esperarse (por ser una auxina modificada para evitar su degradación), es probable que se deba también a la sensibilidad de las células a la auxina, expresado en un bajo reconocimiento hacia este regulador de crecimiento; otro factor que también puede estar participando es el de su transporte. Además, se suma el hecho de que con  $p$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA<sub>100ppm</sub> hubo una mayor actividad enzimática de AIAoxidasa biológicamente, aunque no se hayan encontrado diferencias significativas para este parámetro.

*Prosopis laevigata* es una especie que responde bien al enraizamiento por estacas, ya que tomando en cuenta a los grupos control, se observaron porcentajes de enraizamiento desde un 50 hasta un

95%, por otra parte a través de cultivo de tejidos con aplicaciones de ANA y AIB en combinación con BAP realizados por Orozco (1996), no se encontró enraizamiento, por lo que su propagación a través de estacas puede ser una buena alternativa para esta especie.

La aplicación de auxinas exógenas estimuló el enraizamiento para esta especie, ya que se obtuvieron mayores porcentajes de enraizamiento que el grupo control (50%), con los diferentes tratamientos aplicados, llegando a ser hasta de un 80% para ese tiempo (Gráfica 1).

De manera aparte, se puede decir que la concentración de 100 ppm es adecuada para el enraizamiento de *Prosopis laevigata*, ya que los mayores porcentajes de enraizamiento se obtuvieron con los tratamientos de AIA, AIB y *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA a esta concentración.

El comportamiento de los reguladores auxínicos en esta especie es esperado, en algún modo; partiendo del hecho de que las plantas tienen una mejor respuesta a reguladores de crecimiento vegetal (como lo es *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA) que a la principal auxina natural (el AIA) aplicados exógenamente. Por otro lado, también ha sido muy comentado, el aspecto de que el AIB es una de las hormonas que mejor promueve el enraizamiento en comparación con AIA y que algunos reguladores de crecimiento vegetal (Salisbury 1994); siendo posible observar un 80% de enraizamiento con AIB, un 50% con AIA y un 60% con *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre estos tratamientos.

Los reguladores auxínicos aquí empleados, se comportan en base a que, una baja concentración de hormona promueve el enraizamiento y una alta concentración lo inhiben o disminuyen. Este aspecto se ilustra al observar los resultados del porcentaje de enraizamiento en la gráfica 1C, en la tercera semana, observando los mayores porcentajes de enraizamiento a 100 ppm; disminución en el porcentaje con AIB y *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA, e inhibido con AIA a concentraciones de 200 y 500 ppm.

La actividad enzimática de la AIAoxidasas observada fue baja, si se consideran los valores obtenidos para *Mimosa luisana*. La evaluación de esta actividad (Gráfica 7C) muestra que hubo una mayor actividad de la AIAoxidasas en los tratamientos de AIB, seguida por los tratamientos con AIA y por último con *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA. La mayor actividad enzimática de la AIAoxidasas, con el tratamiento de AIB, puede ser a causa de su conversión a AIA (Woodward *et al*; 2005); a esto podemos agregar el hecho de que la AIAoxidasas fue más afín al AIA, seguido por *p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA y, con la menor afinidad por el AIB.

El bajo porcentaje de enraizamiento con AIA, puede ser causa de varios factores en conjunto; empezando por la alta afinidad de la AIAoxidasas por su sustrato natural pero con baja actividad, lo cual lleva a pensar que el AIA está siendo degradado, pero no significativamente; por lo que es probable que la concentración de AIA esté siendo regulada a través de la conjugación del AIA, este hecho ha sido bastante referenciado, como uno de los principales eventos que ocurren tras la aplicación de AIA exógeno durante el enraizamiento, como lo explican Nortstrom y Eliasson (1991),

El efecto del mayor porcentaje de enraizamiento del AIB está en función a la mayor estabilidad de esta hormona en el interior de las plantas que el AIA y a su posterior conversión en AIA a través de la  $\beta$ -oxidación. Otro hecho es que el transporte de salida de la auxina este jugando algún papel, ya que es un proceso de regulación de la concentración de AIA que favorece la disminución de la concentración de hormona, y por otro lado también es posible que el AIB este actuando de manera independiente (Ludwing-Müller, 2000).

Los niveles de AIA endógeno basal encontrados pueden estar relacionados con la baja actividad de la AIAoxidasa encontrada, probablemente también con biosíntesis *in situ* y con el transporte de llegada, ya que estos dos últimos son procesos de la regulación de la concentración de AIA, y que favorecen su acumulación (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Fue posible encontrar raíces en esta especie, aunque no se mantuvieron; llevando a pensar que para *Prosopis laevigata* si se pudo completar el proceso de enraizamiento, alcanzando los niveles óptimos para llevar a cabo la iniciación, inducción y expresión del enraizamiento.

En cuanto a la concentración de AIA endógeno medida durante el proceso de enraizamiento (Gráfica 9) en *Prosopis laevigata*, se observa una disminución en la concentración (tomando en cuenta los valores basales de la Tabla 1) en el tercer y octavo día para el control, probablemente debido a la rápida conjugación del AIA, posteriormente a las dos semanas aumenta. En el caso de  $p$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA el aumento se da a los ocho días. Estos aumentos en ambos tratamientos pueden indicar que los esquejes se encontraban dentro de la fase de inducción, ya que se ha mencionado que durante esta fase hay un alto nivel de AIA libre y una baja actividad de AIAoxidasa (Woodward *et al*; 2005), pero también hay que considerar que los conjugados del AIA forman parte del pool auxínico y que para este trabajo no se midieron. Además se puede decir que los esquejes con  $p$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA, entraron primero en la fase de inducción (8 días).

El bajo enraizamiento de los acodos realizados en las tres especies, se atribuye principalmente a la falta de humedad durante el tiempo de tratamiento, ya que la humedad es un factor de gran importancia para el desarrollo de raíces adventicias (Hartman y Kester, 19986; Vega *et al*; 1999a) y, a que no se les dio el mantenimiento adecuado por estar bajo condiciones de campo, expuestos a altas temperaturas y a una alta evapotranspiración.

Por otro lado, de acuerdo con los resultados, se observó que a finales de septiembre es la época menos propicia para realizar la colecta del material vegetal, ya que en *Mimosa luisana* y *Prosopis laevigata* el porcentaje de enraizamiento es bajo y muy parecido al control y, *Cercidium praecox* no produjo enraizamiento, cuando los esquejes se colectaron en tal momento (Gráfica 1). Por otro lado, los días finales de octubre y principios de noviembre es una época propicia para la colecta de los esquejes de las tres especies; aunque para *Prosopis laevigata* a finales de junio es mucho mejor, en vista de que se obtuvieron porcentajes de enraizamiento de hasta un 95% para el grupo control (Gráfica 3). En *Mimosa luisana* y *Cercidium praecox* no se realizó esta evaluación.

El efecto que tiene el momento en el cual son colectados los esquejes, sobre el enraizamiento, es atribuido principalmente a la condición fisiológica de los esquejes, mas que a una fecha; además, también se atribuye a el estado fenológico en el cual se encuentran las plantas a la hora en que se tomaron los esquejes de ellas, ya que procesos como la floración y la fructificación, también son regulados por auxinas en combinación con otros fitoreguladores (Hartman y Keste, 1986; Ford *et al*; 2001); por lo que se puede pensar que el estado fenológico en el cual se encontraban los esquejes a la hora de la colecta, talves haya influenciado el enraizamiento de los esquejes, ya que al analizar los resultados, no se encontró, con las variables que se midieron, alguna otra explicación para los resultados del no enraizamiento de *Cercidium praecox* (a finales de septiembre) y *Prosopis laevigata* (finales de abril), además que para esas fechas se ha reportado que ambas especies se encuentran en floración.

Es importante mencionar, que se han hecho estudios a través de métodos bioclimáticos (Rosas, 2004), de las especies potencialmente importantes para la reforestación del Valle de Zapotitlán Salinas Puebla, donde se menciona a *Prosopis laevigata*, *Cercidium praecox* y *Mimosa luisana*. Los parámetros que utilizan este tipo de estudios son 19: temperatura promedio anual (°C), oscilación diurna de la temperatura (°C), isothermidad (°C), estacionalidad de la temperatura (C de V%), temperatura máxima del periodo más caliente (°C), temperatura máxima del periodo más frío (°C), oscilación anual de la temperatura (°C), temperatura promedio del cuarto más húmedo (°C), temperatura promedio del cuarto más seco (°C), temperatura promedio del cuarto más caliente (°C), temperatura promedio del cuarto más frío (°C), precipitación anual (mm), precipitación del periodo más húmedo (mm), precipitación del periodo más seco (mm), estabilidad de la precipitación (C de V%), precipitación del cuarto más húmedo (mm), precipitación del cuarto más seco (mm), precipitación del cuarto más caliente (mm), precipitación del cuarto más frío (mm). A través de estos parámetros, se determinan aquellas áreas que climáticamente permitiría establecer a las diferentes especies en una zona determinada; por lo que con este método se obtuvieron los mapas de *Prosopis laevigata*, *Cercidium praecox* y *Mimosa luisana* (Anexo, mapas 1,2 y 3). Cabe mencionar, que además de este tipo de estudios, sería conveniente reforzar las áreas climáticamente obtenidas con estudios edafológicos de las mismas.

## 12.0 CONCLUSIONES

- $p$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA en concentraciones de 100 ppm en *Mimosa luisana*, AIA en 500 ppm para *Cercidium praecox* y AIB en 100 ppm en *Prosopis laevigata*, fueron los reguladores auxínicos que promovieron mejor el enraizamiento en cada especie.
- *Prosopis laevigata* fue la especie que mejor enraizó, por el porcentaje de enraizamiento y el tiempo en el que este se alcanzó, y *Mimosa luisana* fue la que menos enraizó y además, lo hizo en un mayor tiempo.
- Biológicamente se observó que se alcanzaron mayores porcentajes de enraizamiento con las aplicaciones en talco, en comparación con las aplicaciones en solución; aunque estadísticamente no se observaron diferencias significativas, en *Mimosa luisana* y *Prosopis laevigata*; pero si para *Cercidium praecox*,
- El número de isoenzimas de peroxidasa encontradas fue de 5 para *Prosopis laevigata*, 9 para *Mimosa luisana* y 13 para *Cercidium praecox*.
- De las tres especies trabajadas, *Mimosa luisana* presentó los valores más altos de actividad de la enzima AIAoxidasa y *Prosopis laevigata* los más bajos.
- Las AIAoxidasas de las tres especies presentaron alta afinidad por el sustrato AIA, seguido por  $p$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA, y menor afinidad por AIB.
- La propagación vegetativa a través de esquejes es una mejor alternativa para las especies estudiadas, en comparación con los acodos realizados en campo.
- La propagación vegetativa, a través de estacas, con aplicación de auxinas exógenas, puede ser una buena alternativa para estas especies.
- La época del año en la cual fueron colectados los esquejes, pudo haber influido el proceso de enraizamiento, en las tres especies.
- La época menos propicia para la colecta de esquejes, fue a finales de septiembre para las tres especies; y la más propicia para *Mimosa luisana* y *Cercidium praecox* fue a finales del mes de octubre; y para *Prosopis laevigata* a finales del mes de junio.

### **13.0 PERSPECTIVAS**

Durante la realización de este trabajo, se pudo evaluar a tres especies al mismo tiempo, pero sería mejor utilizar una sola especie (se podrían continuar los trabajos con *Prosopis laevigata*), para poder incluir más número de réplicas en los experimentos de enraizamiento, probar otros reguladores auxínicos y concentraciones; además de que se podría realizar el experimento en un mismo tiempo para evitar efectos de tiempo de colecta. También se podría evaluar el efecto de las reguladores auxínicos en combinación con otras hormonas relacionadas con el enraizamiento, como las citocininas; junto con lo anterior se buscaría utilizar un método de evaluar el enraizamiento sin manipular mucho los esquejes.

Por otro lado, se podrían medir otras variables a parte de las que se evaluaron aquí, como el transporte auxínico y, la identificación y concentración de conjugados de AIA y AIB, basales y durante el enraizamiento; ya que con ello se conocería mejor como ocurre el proceso de raizamiento.

En cuanto al tiempo de medición de la actividad de peroxidasa y AIAoxidasas y otras variables, recomendaría que se efectuaran en los primeros días de enraizamiento y a posterior (2 a 3 semanas), para poder dar un mejor seguimiento de los cambios que ocurren en el proceso de enraizamiento y observar la correlación entre las variables y el proceso de enraizamiento. Además, si se cuenta con un mayor número de esquejes se pueden realizar las pruebas solo en la base de los esquejes.

## APÉNDICE

### I.- Comparación de proporciones mediante una tabla de contingencia

Se comparó la proporción de enraizamiento de los distintos tratamientos y sus concentraciones, a través de una tabla de contingencia para ver si había diferencias significativas.

#### *Mimosa luisana:*

| Tratamientos                 | Concentración(ppm) |          |          |
|------------------------------|--------------------|----------|----------|
|                              | 100 (11r)          | 200(20r) | 500(11r) |
| Control                      | 0                  | 2        | 0        |
| AIA                          | 0                  | 1        | 1        |
| AIB                          | 2                  | 1        | 3        |
| $\rho$ -NO <sub>2</sub> ΦAIA | 4                  | 2        | 0        |

$$p = \frac{\sum x_i}{\sum n_i} = \frac{\text{sumatoria de los esquejes enraizados}}{\text{sumatoria total}}$$

$$p = 0.0952381$$

$$q = 1 - p = 0.9047619$$

| Tratamientos                 | Concentración(ppm) |             |             |                          |
|------------------------------|--------------------|-------------|-------------|--------------------------|
|                              | 100 (11r)          | 200(20r)    | 500(11)     |                          |
| Control                      | -                  | 3.100478469 | -           |                          |
| AIA                          | -                  | 3.454545455 | 0.956937799 |                          |
| AIB                          | 0.775119617        | 3.454545455 | 0.612440191 |                          |
| $\rho$ -NO <sub>2</sub> ΦAIA | 0.468899522        | 3.100478469 | -           |                          |
|                              |                    |             | 15.923445   | X <sup>2</sup> calculada |
|                              |                    |             | 14.067      | X <sup>2</sup> tablas    |
|                              |                    |             | 7           | GL                       |

$$\chi^2 = \sum \frac{(x_i - n_i p)^2}{n_i p q} = 15.923445$$

$$p < 0.05$$

Como la  $\chi^2$  calculada es mayor que la  $\chi^2$  de tablas se dice que si hay diferencias.

#### Comparación múltiple para proporciones

| Tratamientos                     | PROP ENR | p'    | Diferencia<br>p' <sub>B</sub> - p' <sub>A</sub> | ES         | q          | q <sub>0.05, ∞, 7</sub> |
|----------------------------------|----------|-------|---|------------|------------|-------------------------|
| $\rho$ -NO <sub>2</sub> ΦAIA 100 | 0.36     | 37.73 | 5.1   | 4.22394829 | 1.20740115 | 4.286                   |
| AIB 500                          | 0.27     | 32.63 |   |            |            |                         |
| AIB 100                          | 0.18     | 27.05 | 10.68   | 4.22394829 | 2.52844005 | 4.286                   |
| CONTROL                          | 0.1      | 20.09 |   |            |            |                         |
| $\rho$ -NO <sub>2</sub> ΦAIA 200 | 0.1      | 20.09 | 17.64   | 3.73165644 | 4.72712327 |                         |
| AIA 500                          | 0.09     | 20.44 |   |            |            |                         |
| AIA 200                          | 0.05     | 15.29 | 22.44   | 3.73165644 | 6.01341531 |                         |
| AIB 200                          | 0.05     | 15.29 |   |            |            |                         |

Por lo que si hay diferencias significativas a partir del control con  $\rho$ -NO<sub>2</sub>ΦAIA 100 ppm.

**Prosopis laevigata**

| Tratamientos           | Concentración(ppm) |         |          |
|------------------------|--------------------|---------|----------|
|                        | 100(10r)           | 200(9r) | 500(10r) |
| Control                | 4                  | 1       | 4        |
| AIA                    | 5                  | 1       | 1        |
| AIB                    | 8                  | 2       | 5        |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 6                  | 2       | 5        |

$$p = \frac{\sum x_i}{\sum n_i} = \frac{\text{sumatoria de los esques enraizados}}{\text{sumatoria total}}$$

p=0.37931034  
q= 1 - p =0. 62068966

| Tratamientos           | Concentración(ppm) |             |             | X <sup>2</sup> calculada |
|------------------------|--------------------|-------------|-------------|--------------------------|
|                        | 100(10r)           | 200(9r)     | 500(10r)    |                          |
| Control                | 2.2                | 4.345679012 | 2.2         | 30.5012346               |
| AIA                    | 1.527777778        | 4.345679012 | 4.95        |                          |
| AIB                    | 0.244444444        | 3.327160494 | 1.527777778 |                          |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 0.977777778        | 3.327160494 | 1.527777778 |                          |
|                        |                    |             | 30.5012346  | X <sup>2</sup> calculada |
|                        |                    |             | 19.675      | X <sup>2</sup> tablas    |
|                        |                    |             | 11          | GL                       |

$$\chi^2 = \sum \frac{(x_i - n_i p)^2}{n_i p q} = 30.5012346$$

p<0.05

Como la x<sup>2</sup> calculada es mayor que la x<sup>2</sup> de tablas se dice que si hay diferencias.

Comparación múltiple para proporciones

| Tratamientos               | PROP ENR | p'   | Diferencia<br>p' <sub>B</sub> - p' <sub>A</sub> | ES         | q          | q <sub>0.05,∞,11</sub> |
|----------------------------|----------|------|---|------------|------------|------------------------|
| AIB 100                    | 0.8      | 61.1 |   |            |            |                        |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA 100 | 0.6      | 50.3 |   |            |            |                        |
| AIA 100                    | 0.5      | 45   |   |            |            |                        |
| AIB500                     | 0.5      | 45   |   |            |            |                        |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA 500 | 0.5      | 45   | 16.1  | 4.42051495 | 3.64210962 | 4.622                  |
| CONTROL 100                | 0.4      | 39.7 | 21.4  | 4.42051495 | 4.84106496 | 4.622                  |
| CONTROL 500                | 0.4      | 39.7 |   |            |            |                        |
| AIB 200                    | 0.22     | 29.9 |   |            |            |                        |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA 200 | 0.22     | 29.9 |   |            |            |                        |
| CONTROL 200                | 0.11     | 22.5 |   |            |            |                        |
| AIA 200                    | 0.11     | 22.5 |   |            |            |                        |
| AIA 500                    | 0.1      | 21.4 |   |            |            |                        |

Por lo que si hay diferencias significativas a partir del control 100 ppm con AIB 100 ppm.

**Cercidium praecox**

|                        | Concentración(ppm) |         |          |
|------------------------|--------------------|---------|----------|
| Tratamientos           | 100(11r)           | 200(7r) | 500(11r) |
| Control                | 3                  | 0       | 3        |
| AIA                    | 3                  | 0       | 6        |
| AIB                    | 3                  | 0       | 5        |
| p-NO <sub>2</sub> FAIA | 3                  | 0       | 2        |

$$p = \frac{\sum x_i}{\sum n_i} = \frac{\text{sumatoria de los esques enraizados}}{\text{sumatoria total}}$$

$$p = 0.63636364$$

$$q = 1 - p = 0.36363636$$

|                        | Concentración(ppm) |         |             |                          |
|------------------------|--------------------|---------|-------------|--------------------------|
| Tratamientos           | 100(11r)           | 200(7r) | 500(11r)    |                          |
| Control                | 10.18181818        | -       | 10.18181818 |                          |
| AIA                    | 10.18181818        | -       | 3.977272727 |                          |
| AIB                    | 10.18181818        | -       | 5.727272727 |                          |
| p-NO <sub>2</sub> FAIA | 10.18181818        | -       | 12.88636364 |                          |
|                        |                    |         | 73.5        | X <sup>2</sup> calculada |
|                        |                    |         | 14.067      | X <sup>2</sup> tablas    |
|                        |                    |         | 7           | GL                       |

$$X^2 = \sum \frac{(x_i - n_i p)^2}{n_i p q} = 73.5$$

p < 0.05

Como la x<sup>2</sup> calculada es mayor que la x<sup>2</sup> de tablas se dice que si hay diferencias.

Comparación múltiple para proporciones

| Tratamientos               | PROP ENR | p'      | Diferencia p' <sub>B</sub> - p' <sub>A</sub> | ES         | q          | q <sub>0.05, ∞, 7</sub> |
|----------------------------|----------|---------|--|------------|------------|-------------------------|
| AIA 500                    | 0.5454   | 47.3985 | 4.7971                                       | 4.22394829 | 1.13569099 | 3.633                   |
| AIB 500                    | 0.4545   | 42.6014 |  |            |            |                         |
| control                    | 0.2727   | 32.6321 | 14.7664                                      | 4.22394829 | 3.49587613 | 3.633                   |
| p-NO <sub>2</sub> FAIA 500 | 0.1818   | 27.0474 | 20.3511                                      | 4.22394829 | 4.81802774 | 3.63                    |

Solo hay diferencias significativas entre AIA 500 ppm y p-NO<sub>2</sub>FAIA 500 ppm.

- Análisis para el modo de aplicación de los tratamientos:

**Mimosa luisana**

|              | Modo de aplicación |               |
|--------------|--------------------|---------------|
| Tratamientos | Talco(10r)         | Solución(10r) |
| Control      | 2                  | 2             |
| AIB          | 2                  | 3             |

$$p = \frac{\sum x_i}{\sum n_i} = \frac{\text{sumatoria de los esques enraizados}}{\text{sumatoria total}}$$

$$p = 0.225$$

$$q = 1 - p = 0.775$$

|              | Modo de aplicación |               |  |
|--------------|--------------------|---------------|--|
| Tratamientos | Talco(10r)         | Solución(10r) |  |
| Control      | 1.858064516        | 1.858064516   |  |
| AIB          | 1.858064516        | 1.422580645   |  |

$$X^2 = \sum \frac{(x_i - n_i p)^2}{n_i p q} = 6.996$$

p < 0.05

|  |  |             |                          |
|--|--|-------------|--------------------------|
|  |  | 6.996774194 | X <sup>2</sup> calculada |
|  |  | 9.488       | X <sup>2</sup> tablas    |
|  |  | 4           | GL                       |

Como la x<sup>2</sup> calculada es menor que la x<sup>2</sup> de tablas se dice que no hay diferencias.

### *Prosopis laevigata*

| Tratamientos           | Modo de aplicación |               |
|------------------------|--------------------|---------------|
|                        | Talco(10r)         | Solución(10r) |
| Control                | 1                  | 1             |
| AIB                    | 3                  | 0             |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 3                  | 2             |

$$p = \frac{\sum x_i}{\sum n_i} = \frac{\text{sumatoria de los esques enraizados}}{\text{sumatoria total}}$$

$$p = 0.166666667$$

$$q = 1 - p = 0.833333333$$

| Tratamientos           | Modo de aplicación |               |                          |
|------------------------|--------------------|---------------|--------------------------|
|                        | Talco(10r)         | Solución(10r) |                          |
| Control                | 1.62               | 1.62          |                          |
| AIB                    | 0.98               | 0             |                          |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 0.98               | 1.28          |                          |
|                        |                    | 6.48          | X <sup>2</sup> calculada |
|                        |                    | 9.488         | X <sup>2</sup> tablas    |
|                        |                    | 4             | GL                       |

$$X^2 = \sum \frac{(x_i - n_i p)^2}{n_i p q} = 6.48$$

$$p < 0.05$$

Como la x<sup>2</sup> calculada es menor que la x<sup>2</sup> de tablas se dice que no hay diferencias.

### *Cercidium praecox*

| Tratamientos           | Modo de aplicación |               |
|------------------------|--------------------|---------------|
|                        | Talco(14r)         | Solución(14r) |
| Control                | 5                  | 4             |
| AIB                    | 10                 | 3             |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 3                  | 5             |

$$p = \frac{\sum x_i}{\sum n_i} = \frac{\text{sumatoria de los esques enraizados}}{\text{sumatoria total}}$$

$$p = 0.357142857$$

$$q = 1 - p = 0.642857143$$

| Tratamientos           | Modo de aplicación |               |                          |
|------------------------|--------------------|---------------|--------------------------|
|                        | Talco(14r)         | Solución(14r) |                          |
| Control                | 3.214285712        | 3.968253965   |                          |
| AIB                    | 0.634920634        | 4.801587298   |                          |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 4.801587298        | 3.214285712   |                          |
|                        |                    | 20.63492062   | X <sup>2</sup> calculada |
|                        |                    | 11.07         | X <sup>2</sup> tablas    |
|                        |                    | 5             | GL                       |

$$X^2 = \sum \frac{(x_i - n_i p)^2}{n_i p q} = 20.6349$$

$$p < 0.05$$

Como la x<sup>2</sup> calculada es mayor que la x<sup>2</sup> de tablas se dice que si hay diferencias.

### Comparación múltiple para proporciones

| Tratamientos             | PROP ENR    | p'          | Diferencia p' <sub>B</sub> - p' <sub>A</sub> | ES         | q          | q <sub>0.05, ∞, 5</sub> |
|--------------------------|-------------|-------------|--|------------|------------|-------------------------|
| AIB T                    | 0.714285714 | 56.82233998 | 19.5743849                                   | 3.76169441 | 5.20360847 | 4.03                    |
| CONTROL T                | 0.357142857 | 37.24795508 |  |            |            |                         |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA S | 0.357142857 |             |  |            |            |                         |

|                          |             |             |             |            |            |      |
|--------------------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------|
| CONTROL S                | 0.285714286 | 33.17766002 | 23.64467996 | 3.76169441 | 6.28564614 | 4.03 |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA T | 0.214285714 | 28.82799077 | 27.99434921 | 3.76169441 | 7.44195199 | 4.03 |
| AIB S                    | 0.214285714 |             |             |            |            |      |

Por lo que si hay diferencias significativas a partir del control de solución con AIB aplicado en talco.

## II.- ANOVA de dos vías no paramétrico

Se evaluó la actividad enzimática de la AIAoxidasa de los tratamientos y sus concentraciones, a través de este método, para buscar si había diferencias significativas.

### Mimosa luisana

| Tratamientos           | Concentraciones (ppm) |          |           |
|------------------------|-----------------------|----------|-----------|
|                        | 100                   | 200      | 500       |
| Control                | 547.7477              | 3800     | 547.7477  |
|                        | 479.2792              | 3377.777 | 479.2792  |
|                        | 296.6966              | 3800     | 296.6966  |
| AIA                    | 562.9629              | 247      | 800       |
|                        | 633.3333              | 247      | 888.888   |
|                        | 703.7037              | 475      | 844.444   |
| AIB                    | 587.4396              | 76       | 844.444   |
|                        | 73.4299               | 114      | 1294.8148 |
|                        | 257.0048              | 114      | 1238.5185 |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 0                     | 200      | 2627.1604 |
|                        | 0                     | 380      | 1970.3707 |
|                        | 0                     | 440      | 2064.1975 |

### Tablas de códigos para las tres especies

#### Tratamientos

|                        |   |
|------------------------|---|
| Control                | 1 |
| AIA                    | 2 |
| AIB                    | 3 |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 4 |

#### Concentraciones

|         |   |
|---------|---|
| 100 ppm | 1 |
| 200 ppm | 2 |
| 500 ppm | 3 |

| Tratamientos | Concentraciones | Actividad |      |
|--------------|-----------------|-----------|------|
| 1            | 1               | 547.7477  | 1    |
| 1            | 1               | 479.2792  | 2    |
| 1            | 1               | 296.6966  | 3.5  |
| 1            | 2               | 3800      | 3.5  |
| 1            | 2               | 3377.777  | 5.5  |
| 1            | 2               | 3800      | 5.5  |
| 1            | 3               | 547.7477  | 7    |
| 1            | 3               | 479.2792  | 8.5  |
| 1            | 3               | 296.6966  | 8.5  |
| 2            | 1               | 562.9629  | 10   |
| 2            | 1               | 633.3333  | 11.5 |
| 2            | 1               | 703.7037  | 11.5 |
| 2            | 2               | 247       | 13.5 |
| 2            | 2               | 247       | 13.5 |
| 2            | 2               | 475       | 15   |
| 2            | 3               | 800       | 16   |
| 2            | 3               | 888.888   | 17   |
| 2            | 3               | 844.444   | 18   |

| Cua.Med.Tot |          | ss   | ss/ms tot  | gl | p   |
|-------------|----------|------|------------|----|-----|
| 256.537037  | hor      | 117  | 0.4560745  | 2  | 0.8 |
|             | conc     | 222  | 0.86537212 | 2  | 0.7 |
|             | hor*conc | 1124 | 4.38143362 | 4  | 0.4 |

|   |   |           |      |
|---|---|-----------|------|
| 3 | 1 | 587.4396  | 19   |
| 3 | 1 | 73.4299   | 20.5 |
| 3 | 1 | 257.0048  | 20.5 |
| 3 | 2 | 76        | 22   |
| 3 | 2 | 114       | 23   |
| 3 | 2 | 114       | 24   |
| 3 | 3 | 844.444   | 25   |
| 3 | 3 | 1294.8148 | 26.5 |
| 3 | 3 | 1238.5185 | 26.5 |

Resultados del Análisis de Varianza con el programa SPSS

Univariate Analysis of Variante

Between-Subjects Factors

|          |      | N |
|----------|------|---|
| VAR00001 | 1.00 | 9 |
|          | 2.00 | 9 |
|          | 3.00 | 9 |
| VAR00002 | 1.00 | 9 |
|          | 2.00 | 9 |
|          | 3.00 | 9 |

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VAR00003

| Source              | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F        | Sig. |
|---------------------|-------------------------|----|-------------|----------|------|
| Corrected Model     | 1617.167                | 8  | 202.146     | 209.921  | .000 |
| Intercept           | 5292.000                | 1  | 5292.000    | 5495.538 | .000 |
| VAR00001            | 1458.000                | 2  | 729.000     | 757.038  | .000 |
| VAR00002            | 159.056                 | 2  | 79.528      | 82.587   | .000 |
| VAR00001 * VAR00002 | .111                    | 4  | 2.778E-02   | .029     | .998 |
| Error               | 17.333                  | 18 | .963        |          |      |
| Total               | 6926.500                | 27 |             |          |      |
| Corrected Total     | 1634.500                | 26 |             |          |      |

a R Squared = .989 (Adjusted R Squared = .985)

***Prosopis laevigata***

| Tratamientos | Concentraciones (ppm) |          |          |
|--------------|-----------------------|----------|----------|
|              | 100                   | 200      | 500      |
| Control      | 336.3465              | 159.0697 | 336.3465 |
|              | 364.9717              | 141.3953 | 364.9717 |
|              | 350.6591              | 167.9069 | 350.6591 |
| AIA          | 310.0694              | 193.3333 | 156.822  |
|              | 303.4722              | 213.3333 | 168.888  |
|              | 296.875               | 193.3333 | 168.888  |
| AIB          | 331.1546              | 486.4    | 281.481  |

|                        |          |          |         |
|------------------------|----------|----------|---------|
|                        | 339.4335 | 425.6    | 265.843 |
|                        | 314.5969 | 532      | 281.481 |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 202.666  | 147.3469 | 102.702 |
|                        | 160.444  | 139.5918 | 102.702 |
|                        | 194.222  | 139.5918 | 79.879  |

| Tratamientos | Concentraciones | Actividad |      |
|--------------|-----------------|-----------|------|
| 4            | 3               | 79.879    | 1    |
| 4            | 3               | 102.702   | 2.5  |
| 4            | 3               | 102.702   | 2.5  |
| 4            | 2               | 139.5918  | 4.5  |
| 4            | 2               | 139.5918  | 4.5  |
| 1            | 2               | 141.3953  | 6    |
| 4            | 2               | 147.3469  | 7    |
| 2            | 3               | 156.822   | 8    |
| 1            | 2               | 159.0697  | 9    |
| 4            | 1               | 160.444   | 10   |
| 1            | 2               | 167.9069  | 11   |
| 2            | 3               | 168.888   | 12.5 |
| 2            | 3               | 168.888   | 12.5 |
| 2            | 2               | 193.3333  | 14.5 |
| 2            | 2               | 193.3333  | 14.5 |
| 4            | 1               | 194.222   | 16   |
| 4            | 1               | 202.666   | 17   |
| 2            | 2               | 213.3333  | 18   |
| 3            | 3               | 265.843   | 19   |
| 3            | 3               | 281.481   | 20.5 |
| 3            | 3               | 281.481   | 20.5 |
| 2            | 1               | 296.875   | 22   |
| 2            | 1               | 303.4722  | 23   |
| 2            | 1               | 310.0694  | 24   |
| 3            | 1               | 314.5969  | 25   |
| 3            | 1               | 331.1546  | 26   |
| 1            | 1               | 336.3465  | 27.5 |
| 1            | 3               | 336.3465  | 27.5 |
| 3            | 1               | 339.4335  | 29   |
| 1            | 1               | 350.6591  | 30.5 |
| 1            | 3               | 350.6591  | 30.5 |
| 1            | 1               | 364.9717  | 32.5 |
| 1            | 3               | 364.9717  | 32.5 |
| 3            | 2               | 425.6     | 34   |
| 3            | 2               | 486.4     | 35   |
| 3            | 2               | 532       | 36   |

| Cua.Med.Tot |          | ss   | ss/ms tot  | gl | p   |
|-------------|----------|------|------------|----|-----|
| 450.055556  | hor      | 2046 | 4.54610542 | 3  | 0.2 |
|             | conc     | 458  | 1.01765214 | 2  | 0.6 |
|             | hor*conc | 1269 | 2.81965189 | 6  | 0.8 |

Resultados del Análisis de Varianza con el programa SPSS

Univariate Analysis of Variante

Between-Subjects Factors

|          |      | N  |
|----------|------|----|
| VAR00001 | 1.00 | 9  |
|          | 2.00 | 9  |
|          | 3.00 | 9  |
|          | 4.00 | 9  |
| VAR00002 | 1.00 | 12 |
|          | 2.00 | 12 |
|          | 3.00 | 12 |

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VAR00003

| Source          | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|-----------------|-------------------------|----|-------------|--------|------|
| Corrected Model | 3772.833                | 11 | 342.985     | 76.101 | .000 |

|                     |           |    |           |          |      |
|---------------------|-----------|----|-----------|----------|------|
| Intercept           | 12321.000 | 1  | 12321.000 | 2733.781 | .000 |
| VAR00001            | 2045.667  | 3  | 681.889   | 151.297  | .000 |
| VAR00002            | 458.375   | 2  | 229.187   | 50.852   | .000 |
| VAR00001 * VAR00002 | 1268.792  | 6  | 211.465   | 46.920   | .000 |
| Error               | 108.167   | 24 | 4.507     |          |      |
| Total               | 16202.000 | 36 |           |          |      |
| Corrected Total     | 3881.000  | 35 |           |          |      |

a R Squared = .972 (Adjusted R Squared = .959)

### *Cercidium praecox*

| Tratamientos           | Concentraciones (ppm) |          |          |
|------------------------|-----------------------|----------|----------|
|                        | 100                   | 200      | 500      |
| Control                | 609.876               | 42.2222  | 609.876  |
|                        | 656.79                | 633.333  | 656.79   |
|                        | 562.962               | 591.111  | 562.962  |
| AIA                    | 119.323               | 1140     | 760      |
|                        | 119.323               | 988      | 760      |
|                        | 110.144               | 1140     | 675.555  |
| AIB                    | 554.166               | 212.8    | 844.444  |
|                        | 659.722               | 276.6    | 703.703  |
|                        | 554.166               | 334.4    | 774.073  |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 723.819               | 398.0952 | 518      |
|                        | 814.297               | 470.4761 | 431.8181 |
|                        | 723.819               | 361.9047 | 561.3636 |

| Tratamientos | Concentraciones | Actividad |      |
|--------------|-----------------|-----------|------|
| 1            | 2               | 42.2222   | 1    |
| 2            | 1               | 110.144   | 2    |
| 2            | 1               | 119.323   | 3.5  |
| 2            | 1               | 119.323   | 3.5  |
| 3            | 2               | 212.8     | 5    |
| 3            | 2               | 276.6     | 6    |
| 3            | 2               | 334.4     | 7    |
| 4            | 2               | 361.9047  | 8    |
| 4            | 2               | 398.0952  | 9    |
| 4            | 3               | 431.8181  | 10   |
| 4            | 2               | 470.4761  | 11   |
| 4            | 3               | 518       | 12   |
| 3            | 1               | 554.166   | 13.5 |
| 3            | 1               | 554.166   | 13.5 |
| 4            | 3               | 561.3636  | 15   |
| 1            | 1               | 562.962   | 16.5 |
| 1            | 3               | 562.962   | 16.5 |
| 1            | 2               | 591.111   | 18   |
| 1            | 1               | 609.876   | 19.5 |
| 1            | 3               | 609.876   | 19.5 |
| 1            | 2               | 633.333   | 21   |
| 1            | 1               | 656.79    | 22.5 |
| 1            | 3               | 656.79    | 22.5 |

| Cua.Med.Tot |          | ss     | ss/ms tot  | gl | p    |
|-------------|----------|--------|------------|----|------|
| 450.055556  | hor      | 149.9  | 0.33306999 | 3  | 0.95 |
|             | conc     | 290.8  | 0.64614245 | 2  | 0.72 |
|             | hor*conc | 3022.8 | 6.71650414 | 6  | 0.35 |

|   |   |         |      |
|---|---|---------|------|
| 3 | 1 | 659.722 | 24   |
| 2 | 3 | 675.555 | 25   |
| 3 | 3 | 703.703 | 26   |
| 4 | 1 | 723.819 | 27.5 |
| 4 | 1 | 723.819 | 27.5 |
| 2 | 3 | 760     | 29.5 |
| 2 | 3 | 760     | 29.5 |
| 3 | 3 | 774.073 | 31   |
| 4 | 1 | 814.297 | 32   |
| 3 | 3 | 844.444 | 33   |
| 2 | 2 | 988     | 34   |
| 2 | 2 | 1140    | 35.5 |
| 2 | 2 | 1140    | 35.5 |

Resultados del Análisis de Varianza con el programa SPSS

Univariate Analysis of Variante

Between-Subjects Factors

|          |      | N  |
|----------|------|----|
| VAR00001 | 1.00 | 9  |
|          | 2.00 | 9  |
|          | 3.00 | 9  |
|          | 4.00 | 9  |
| VAR00002 | 1.00 | 12 |
|          | 2.00 | 12 |
|          | 3.00 | 12 |

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VAR00003

| Source              | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|---------------------|-------------------------|----|-------------|---------|------|
| Corrected Model     | 3463.500                | 11 | 314.864     | 18.100  | .000 |
| Intercept           | 12321.000               | 1  | 12321.000   | 708.273 | .000 |
| VAR00001            | 149.889                 | 3  | 49.963      | 2.872   | .057 |
| VAR00002            | 290.792                 | 2  | 145.396     | 8.358   | .002 |
| VAR00001 * VAR00002 | 3022.819                | 6  | 503.803     | 28.961  | .000 |
| Error               | 417.500                 | 24 | 17.396      |         |      |
| Total               | 16202.000               | 36 |             |         |      |
| Corrected Total     | 3881.000                | 35 |             |         |      |

a R Squared = .892 (Adjusted R Squared = .843)

- Análisis para el modo de aplicación de los tratamientos:

***Prosopis laevigata***

| Tratamientos | Modo de aplicación |          |
|--------------|--------------------|----------|
|              | Talco              | Solución |
| Control      | 206.8548           | 593.75   |

**Tablas de códigos para las tres especies**

Tratamientos

|                        |   |
|------------------------|---|
| Control                | 1 |
| AIB                    | 2 |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 3 |

Aplicaciones

|          |   |
|----------|---|
| Talco    | 1 |
| Solución | 2 |

|                        |          |          |
|------------------------|----------|----------|
|                        | 199.1935 | 695.5357 |
|                        | 137.9032 | 695.5357 |
| AIB                    | 160.887  | 352.1551 |
|                        | 107.258  | 720.6896 |
|                        | 168.5483 | 384.9137 |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 292.3076 | 629.6511 |
|                        | 155.2884 | 784.3023 |
|                        | 310.5769 | 706.9557 |

| Tratamientos | Concentraciones | Actividad |      |
|--------------|-----------------|-----------|------|
| 2            | 2               | 107.258   | 1    |
| 1            | 1               | 137.9032  | 2    |
| 3            | 2               | 155.2884  | 3    |
| 2            | 1               | 160.887   | 4    |
| 2            | 1               | 168.5483  | 5    |
| 1            | 2               | 199.1935  | 6    |
| 1            | 1               | 206.8548  | 7    |
| 3            | 1               | 292.3076  | 8    |
| 3            | 1               | 310.5769  | 9    |
| 2            | 2               | 352.1551  | 10   |
| 2            | 2               | 384.9137  | 11   |
| 1            | 2               | 593.75    | 12   |
| 3            | 2               | 629.6511  | 13   |
| 1            | 1               | 695.5357  | 14.5 |
| 1            | 2               | 695.5357  | 14.5 |
| 3            | 2               | 706.9557  | 16   |
| 2            | 1               | 720.6896  | 17   |
| 3            | 1               | 784.3023  | 18   |

| Cua.Med.Tot |          | ss   | ss/ms tot  | gl | p        |
|-------------|----------|------|------------|----|----------|
| 117.166667  | hor      | 30   | 0.25604552 | 2  | 0.879833 |
|             | conc     | 0.22 | 0.00187767 | 1  | 0.965436 |
|             | hor*conc | 17   | 0.14509246 | 2  | 0.930022 |

Resultados del Análisis de Varianza con el programa SPSS

Univariate Analysis of Variante

Between-Subjects Factors

|          |      | N |
|----------|------|---|
| VAR00001 | 1.00 | 6 |
|          | 2.00 | 6 |
|          | 3.00 | 6 |
| VAR00002 | 1.00 | 9 |
|          | 2.00 | 9 |

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: VAR00003

| Source              | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|---------------------|-------------------------|----|-------------|--------|------|
| Corrected Model     | 48.000                  | 5  | 9.600       | .264   | .924 |
| Intercept           | 1624.500                | 1  | 1624.500    | 44.711 | .000 |
| VAR00001            | 30.333                  | 2  | 15.167      | .417   | .668 |
| VAR00002            | .222                    | 1  | .222        | .006   | .939 |
| VAR00001 * VAR00002 | 17.444                  | 2  | 8.722       | .240   | .790 |
| Error               | 436.000                 | 12 | 36.333      |        |      |
| Total               | 2108.500                | 18 |             |        |      |
| Corrected Total     | 484.000                 | 17 |             |        |      |

a R Squared = .099 (Adjusted R Squared = -.276)

### ***Cercidium praecox***

|              | Modo de aplicación |          |
|--------------|--------------------|----------|
| Tratamientos | Talco              | Solución |
| Control      | 323.4042           | 661.6071 |
|              | 293.0851           | 458.0357 |

|                        |          |           |
|------------------------|----------|-----------|
|                        | 373.9361 | 457       |
| AIB                    | 626.1363 | 644.6428  |
|                        | 518.1818 | 407.1428  |
|                        | 604.5454 | 1255.0475 |
| p-NO <sub>2</sub> ΦAIA | 277.0833 | 494       |
|                        | 303.4722 | 760       |
|                        | 290.2777 | 494       |

| Tratamientos | Concentraciones | Actividad |      |
|--------------|-----------------|-----------|------|
| 3            | 1               | 277.0833  | 1    |
| 3            | 1               | 290.2777  | 2    |
| 1            | 2               | 293.0851  | 3    |
| 3            | 2               | 303.4722  | 4    |
| 1            | 1               | 323.4042  | 5    |
| 1            | 1               | 373.9361  | 6    |
| 2            | 1               | 407.1428  | 7    |
| 1            | 2               | 457       | 8    |
| 1            | 1               | 458.0357  | 9    |
| 3            | 2               | 494       | 10.5 |
| 3            | 2               | 494       | 10.5 |
| 2            | 2               | 518.1818  | 12   |
| 2            | 1               | 604.5454  | 13   |
| 2            | 1               | 626.1363  | 14   |
| 2            | 2               | 644.6428  | 15   |
| 1            | 2               | 661.6071  | 16   |
| 3            | 1               | 760       | 17   |
| 2            | 2               | 1255.0475 | 18   |

| Cua.Med.Tot |          | ss  | ss/ms tot  | gl | p        |
|-------------|----------|-----|------------|----|----------|
| 117.166667  | hor      | 121 | 1.03271693 | 2  | 0.596689 |
|             | conc     | 29  | 0.24751067 | 1  | 0.618833 |
|             | hor*conc | 3   | 0.02560455 | 2  | 0.987279 |

Resultados del Análisis de Varianza con el programa SPSS

Univariate Analysis of Variante

Between-Subjects Factors

|          |      | N |
|----------|------|---|
| VAR00001 | 1.00 | 6 |
|          | 2.00 | 6 |
|          | 3.00 | 6 |
| VAR00002 | 1.00 | 9 |
|          | 2.00 | 9 |

Tests of Between-Subjects Effects

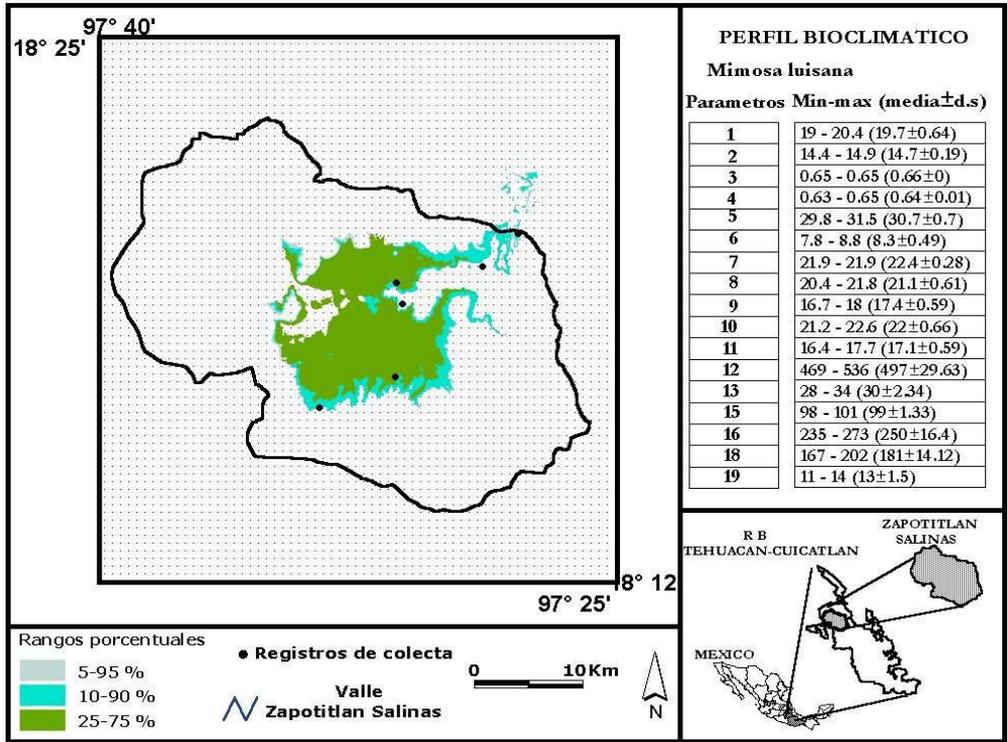
Dependent Variable: VAR00003

| Source              | Type III Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|---------------------|-------------------------|----|-------------|--------|------|
| Corrected Model     | 153.833                 | 5  | 30.767      | 1.118  | .401 |
| Intercept           | 1624.500                | 1  | 1624.500    | 59.043 | .000 |
| VAR00001            | 121.333                 | 2  | 60.667      | 2.205  | .153 |
| VAR00002            | 29.389                  | 1  | 29.389      | 1.068  | .322 |
| VAR00001 * VAR00002 | 3.111                   | 2  | 1.556       | .057   | .945 |
| Error               | 330.167                 | 12 | 27.514      |        |      |

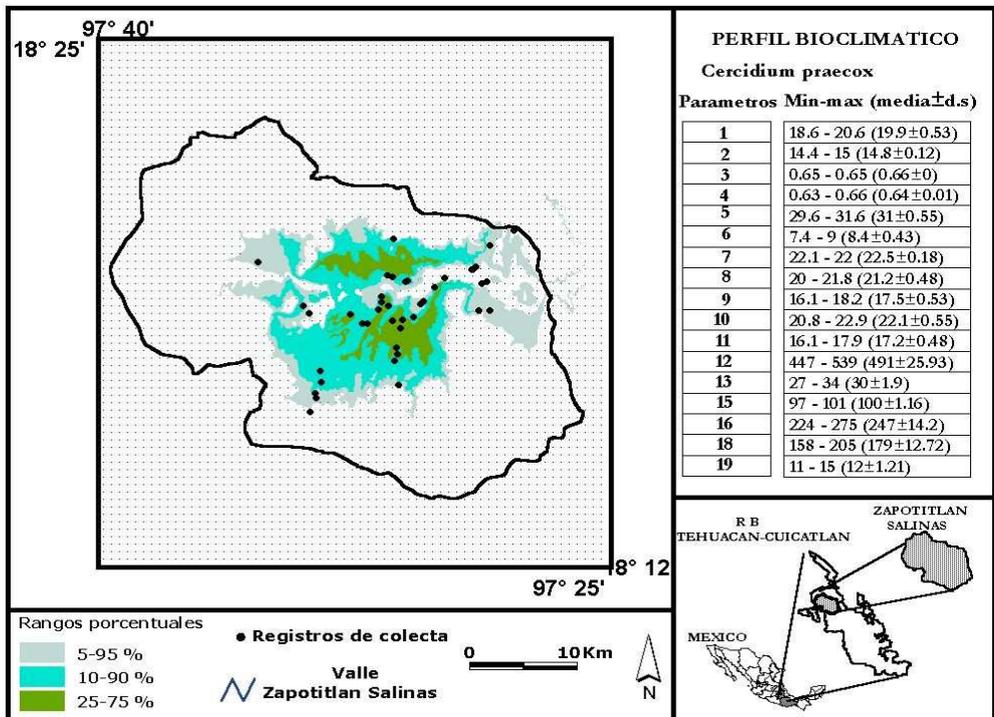
|                 |          |    |  |  |  |
|-----------------|----------|----|--|--|--|
| Total           | 2108.500 | 18 |  |  |  |
| Corrected Total | 484.000  | 17 |  |  |  |

a R Squared = .318 (Adjusted R Squared = .034)

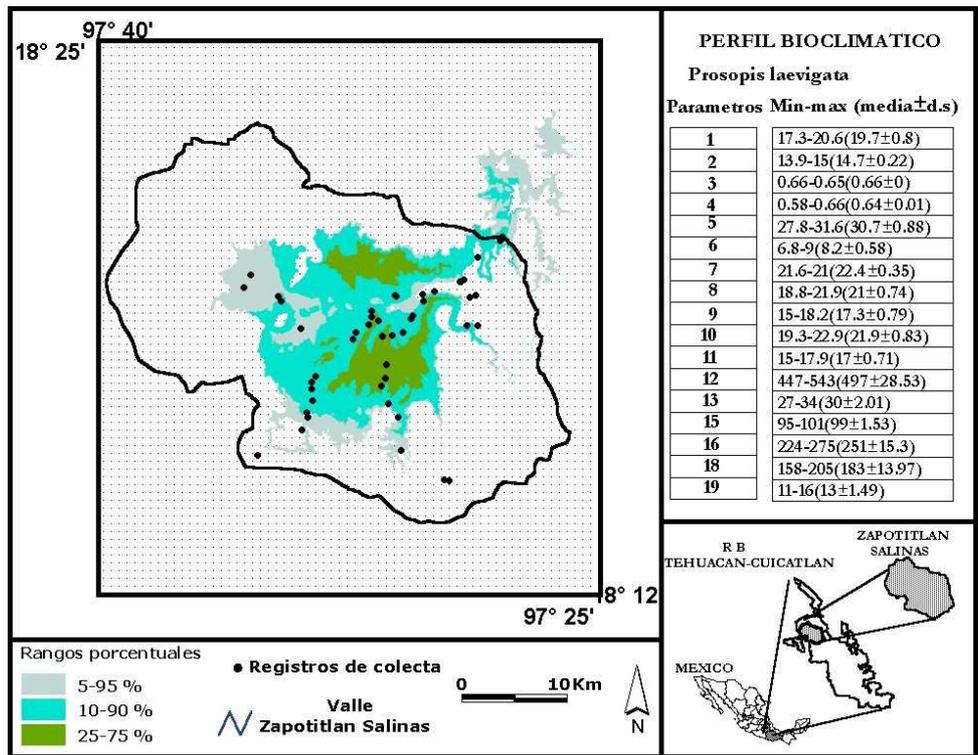
**ANEXO**



**Mapa 1.-** Áreas propicias para la propagación de *Mimosa luisana* en Zapotitlán Salinas, Puebla, tomado de Rosas 2004.



**Mapa 2.-** Áreas propicias para la propagación de *Cercidium praecox* en Zapotitlán Salinas, Puebla, tomado de Rosas 2004.



**Mapa 3.-** Áreas propicias para la propagación de *Prosopis laevigata* en Zapotitlán Salinas, Puebla, tomado de Rosas 2004.

## ABREVIATURAS

**2,4-D.-** ácido 2,4-diclorofenoxiacético  
**4-cloroAIA.-** ácido 4-cloroindolacético  
**ABR-1.-** auxin binding- protein 1  
**AIA.-** ácido indol-3-acético  
**AIB.-** ácido indol-3-butírico  
**ANA.-** ácido  $\alpha$ -naftalenacético  
**APA.-** ácido fenilacético  
**ATP.-** adenosin trifosfato  
**BAP.-** Benzilaminopurina  
**BB.-** azul rápido  
**CLAR.-** cromatografía líquida de alta resolución  
**CoA.-** coenzima A  
**grpf.-** gramo de peso fresco  
**HPLC.-** siglas en inglés de la cromatografía líquida de alta resolución  
**HR.-** humedad relativa  
**mA.-** miliampers  
**mM.-** milimolar  
**MCPA .-** 2-metil-4clorofenoxiacético  
**NPA.-** ácido naftitalámico  
***p*-NO<sub>2</sub>ΦAIA.-** paranitrofenil-indol-3-acetato  
**ppm.-** partes por millón  
**rpm.-** revoluciones por minuto  
**TIBA.-** ácido 2,3,5-triyodobenzóico  
**TRIS.-** Tris [hidroximetil]aminometano)  
**UBIPRO.-** Unidad de Biotecnología y Prototipos  
**V.-** volts  
**μM.-** micromolar

## 14.0 BIBLIOGRAFÍA

- Arias, T.A.A. 2000. Las plantas de Zapotitlán Salinas, Puebla. Un folleto de divulgación sobre botánica y conservación. Tesis de licenciatura. UNAM. Facultad de Ciencias. México, D.F. Folleto 72p, Tesis 47p.
- Azcón-Bieto J. y Talón M. 2000. Fundamentos de Fisiología Vegetal. McGraw-Hill·Interamericana y Edicions Universitat de Barcelona. España. 522p.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microquantities of protein. *Ann. Biochem.* 72-248p.
- Cabañas C.A. 1999. Niveles endógenos de auxinas y su relación con la actividad de AIA-ox durante la formación de raíces adventicias en frijol mungo (*Vigna radiata*). Tesis de licenciatura. Biología. UNAM. Campus Iztacala. Los Reyes Iztacala. Edo. de México. 49p.
- Calderón de R.G. y Rzedowski J. 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología, A.C. y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro (Michoacán). 1406p.
- Campanella J.J., Olajide A.F., Magnus V. y Ludwig-Müller J. 2004, A Novel Auxin Conjugate Hydrolase from Wheat with Substrate for Longer Side-Chain Auxin Amide Conjugates, *Plant Physiology*, 135: 2230-2240p.
- Carter, M.A. 1974. The genus *Cercidium* (Leguminosae: Caesalpinoideae) in the Sonoran desert of Mexico and the United States. Vol. XL, No. 2, pp 17-57.
- Dunn A. y Arditti J. 1968, Experimental plant physiology. Holt, R. y Winston Inc. NY. 265p.
- Dytham C. 1999. Choosing and Using Statistics: A Biologist's Guide. Blackwell, Science. Great Britain.
- Fahn A. 1982. Anatomía vegetal. Ediciones Pirámide, S.A. Madrid, España. 599p.
- Fernández G. y Myrna J. 1986. Fisiología Vegetal Experimental. Instituto Interamericano para la Agricultura. Costa Rica.
- Glawischnig E., Tomas A., Eisenreich W., Spiteller A. y Gierl A. 2000, Auxin Biosynthesis in Maize Kernels, *Plant Physiol*, 123:1109-1120p.
- Haissing, B.E., Davis, T.D. y Reimenschneider, D.E. 1992. Researching the controls of adventitious rooting. *Physiol. Plant.* 84:310-317.
- Hartman, H.T. y Kester, D.E. 1986. Propagación de plantas, principios y prácticas. CIA. Editorial Continental, S. A. De C. V., México. México. 814p.
- Hellgren J.M., Olofsson K. y Sundberg B. 2004, Patterns of Auxin Distribution during Gravitational Induction of Reaction Wood in Poplar and Pine, *Plant Physiology*, 135:212-220p.
- Kokkinakis M.D. y L. Brooks J. 1979. Hydrogen Peroxide-mediated Oxidation of Indole-3-acetic Acid by Tomato Peroxidase and Molecular Oxygen. *Plant Physiology*. 64,220-223.

- Kowalczyk M. y Sandberg G. 2001. Quantitative Análisis of Indole-3-Acetic Acid Metabolites in Arabidopsis, *Plant Physiol*, 127: 1845-1853p.
- Kozłowski T.T y Pallardy S.G. 1997. Physiology of Woody Plants. Academic Press. E.U.A. 411p.
- Labrada A.G.I. 2005. Propagación *in vitro* de *Parkinsonia praecox* (Ruíz & Pavón) Hawkins (Caesalpinaceae) del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis de Licenciatura. Biología. UNAM. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Los Reyes Iztacala. Edo. México. 54p.
- López G.F., Muñoz I.D., Hernández M.M., Soler A.A., Castillo L.C. y Hernández A.I. 2003. análisis integral de la toposecuencia y su influencia en la distribución de la vegetación y la degradación del suelo en la Subcuenca de Zapotitlán Salinas, Puebla, *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*. Tomo LVI, 1:19-41p.
- Lord B.N and Nelson R.J. 1928. North American Flora. *The New York Botanical Garden*. Parte 1 23:156p.
- Luckman G.A. y Menary R.C. 2002, Increased root initiation in cuttings of *Eucalyptus nitens* by delayed auxin application, *Plant Growth Regulation*, 38: 31-35p
- Ludwig-Müller J. 2000, Indole-3-butyric acid in plant growth and development. *Plant Growth Regulation*, 32:2-3, 219-230p.
- Marks T.R. y Simpson S.E. 2000, Rhizogenesis in *Forsythia x intermedia* and *Syringa vulgaris*; application of a simple internode experimental system, *Plant Cell Reports*, 19: 1171-1176p.
- Nordström C-A. y Eliasson L. 1991, Levels of endogenous indole-3-acetic acid and indole-3-acetylaspartic acid during adventitious root formation in pea cuttings, *Physiologia Plantarum*, 82:599-605p.
- Orozco V.J. 1996. Efecto de Bencilaminopurina (BAP), ácido naftalenacético (ANA) y ácido indolbutírico (AIB) en el establecimiento de cultivos *in vitro* de *Prosopis laevigata* H. & B. (Fabaceae) a partir de explantes nodales. Tesis de licenciatura. Biología. UNAM. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala. Los Reyes Iztacala. Edo. de México. 52p.
- Osorio B.O., Valiente-Banuet A., Dávila P. y Medina R. 1996. Tipos de vegetación y diversidad  $\beta$  en el Valle de Zapotitlán de las Salinas, Puebla, México. *Bol. Soc. Bot. México*. 59: 35-58p.
- Peñalosa C.I. 1998. Efecto del AIB, el AIA y el Floroglucinol sobre la respiración en mitocondrias aisladas y la actividad auxina oxidadas. (Y su correlación con la respuesta de formación de raíces adventicias en Hipocótilos de *Phaseolus aureus* bajo diferentes condiciones). Tesis de doctorado en Ciencias (Biología). UNAM. Facultad de Ciencias. México, D.F.
- Pierik R.L.M. 1990. Cultivo in vitro de plantas superiores. Madrid. Mundi-Prensa. 326p.
- Rampey R.A., LeClere S., Kowalsczyk M., Ljung K., Sandberg G. y Bartel B. 2004, A Family of Auxin-Conjugate Hydrolases That Contributes to Free Indole-3-Acetic Acid Levels during Arabidopsis Germination, *Plant Physiology*, 135:978-988p.

- Rashotte A.M., Brady S.R., Reed R.C., Ante S.J. y Muday G.K. 2000, Basipetal Auxin Transport Is Required for Gravitropism in Roots of Arabidopsis. *Plant Physiol*, 122:481-490p
- Roldán M.M.P. 2004. Patrones demográficos de *Prosopis laevigata* en un ambiente fragmentado del Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis de licenciatura. Biología. UNAM. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. de México. 41p.
- Rosas R.I. 2004. Modelos bioclimáticos de especies potencialmente importantes para la reforestación en el Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edo. de México. 41p.
- Rzedowski J. 1988. Vegetación de México. México. Limusa. 432p.
- Salisbury F.B. y Ross C.W. 1994. Fisiología Vegetal. Grupo editorial Iberoamericana. México. 759p.
- Santiago S.M.A. 2003, Efectos del estrés lumínico sobre la actividad y expresión de isoenzimas de peroxidasas en *Neobuxbaumia tetetzo* en Zapotitlan de las Salinas, Puebla, Tesis de licenciatura. Biología. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM, Los Reyes Iztacala, Edo. de México, 44p.
- Valiente-Banuet A., Casas A., Alcántara A., Dávila P., Flores-Hernández N., Arizmendi Ma. del C., Villaseñor J.L. y Ortega R.J. 2000. La Vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Bol. Soc. Bot. México*. 67:24-74p.
- Valiente-Banuet A. y Ezcurra E. 1991. Shade as a cause of the association between the cactus *Neobuxbaumia tetetzo* and the nurse plant *Mimosa luisana* in the Tehuacán Valley, México, *Journal of Ecology*, 79: 961-971p
- Vega V. Ma., G. Castillo de Meier, A. Russo de Bordoy y OA Bovo. 1999. Enraizamiento de acodos aéreos realizados en árboles adultos de *Prosopis alba* Gris. Novenas Jornadas Técnicas Forestales. ITA-FCF-MEYRNRYT-Eldorado, Misiones, Argentina (a).
- Vega V. Ma., G. Castillo de Meier y O.A.Bovo. 1999. Formación de raíces adventicias en *Phitecellobium scalare* a través de la aplicación de tratamientos auxínicos. Novenas Jornadas Técnicas Forestales. ITA-FCF-MEYRNRYT-Eldorado, Misiones, Argentina (b).
- Vázquez-Yanes C. y Batis A.I. 1996. Adopción de árboles nativos valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. *Bol. Soc. Bot. México*. 58: 75-84p.
- Waisel Y., Eshel A. y Uzikafkafi. 2002. Plant Root´s. The Hidden Half. 3ªed. Marcel Dekker, Inc. USA. 1120p.
- Woodward W.A. y Bartel Bonnie. 2005. Auxin: Regulation, Action, and Interaction. *Annals of Botany*. 95:707-735p
- Y. Y. Ford, E.C. Bonham, R.W.F. Cameron, P.S. Blake, H.L. Judd y R.S. Harrison-Murray. 2001. Adventitious rooting: examining the role of auxin in an easy- and a difficult-to-root plant. *Plant Growth Regulation*. 1-11p.

- Zar J.H. 1984. Bioestadistical Análisis. 2ªed. Prentice Hall, Engle wood Cliffs. New Jersey. USA. 718p.