

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS



RESISTENCIA A LA SEQUIA VII:
EFECTO ANTITRANSPIRANTE DE SALICILATOS EN
Phaseolus vulgaris L.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

BEATRIZ

ROSALIA

URBIETA

UBILLA

MEXICO, D. F.

1982



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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

RESISTENCIA A LA SEQUIA I:

Estudio preliminar sobre la herencia del ácido abscísico (ABA) en Zea mays L. Rodríguez González Ma. Teresa

RESISTENCIA A LA SEQUIA II:

Efecto de análogos del ácido salicílico sobre la transpiración de explantes de Phaseolus vulgaris L. Andrade Torres Jose Luis.

RESISTENCIA A LA SEQUIA III:

Efecto de exudados de raíz de diferentes especies en la transpiración de Phaseolus vulgaris L. Ballesteros Lozano Jaime

RESISTENCIA A LA SEQUIA IV:

Efecto antitranspirante del ácido salicílico sobre frijol (Phaseolus vulgaris L.) Trejo López Carlos.

RESISTENCIA A LA SEQUIA V:

Condicionamiento a la sequía en frijol (Phaseolus vulgaris L.); ajustes morfológicos y osmóticos. Villarreal Magaña Armando

RESISTENCIA A LA SEQUIA VI:

Trasplante de maíz (Zea mays L.) y frijol (Phaseolus vulgaris L.) bajo condiciones de temporal. Javalera Rembao Alejandro

I N D I C E

	PAG.
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS	i
LISTA DE CUADROS DEL APENDICE	iii
ABREVIACIONES	v
RESUMEN	vi
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION BIBLIOGRAFICA	3
2.1 Descripción del frijol <u>Phaseolus vulgaris</u> L.	3
2.2 Características de <u>Phaseolus vulgaris</u> L. cv. Caca- huate - 72.....	4
2.3 Importancia del agua y transpiración de las plan- tas.....	5
2.4 Anatomía y las diversas hipótesis explicativas del modo de acción de los estomas.....	7
2.5 Control exógeno del movimiento de estomas	17
2.6 Los Salicilatos	25
a) Presencia en las plantas.....	25
b) Propiedades fisico-químicas de los salicilatos utilizados en la presente investigación.....	26
c) Aspectos fisiológicos	27
2.7 Penetración.....	35
III. OBJETIVO	39
IV. MATERIAL Y METODO	40
V. RESULTADOS	46
VI. DISCUSION	57
VII. CONCLUSIONES	65
BIBLIOGRAFIA	66
APENDICE	77

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

CUADRO		PAG.
1	Factores internos que influyen en la fisiología de las células de cierre.	10
2	Factores ambientales que promueven la apertura estomatal.	11
FIGURA		
1	Estoma abierto de <u>Commelina communis</u> L.	8
2	Experimento bajo condiciones de cámara de crecimiento.	42
3	Experimento bajo condiciones de invernadero.	42
4	Integrador de área foliar	43
5	Efecto de aspersiones de ácido salicílico (10^{-5} a 10^{-3} M) sobre la transpiración.	50
6	Efecto de aspersiones de ácido salicílico (2×10^{-3} a 8×10^{-3} M) sobre la transpiración.	51
7	Efecto de aspersiones de ácido salicílico y sus análogos (3×10^{-3} M) sobre la transpiración.	52
8	Efecto de aspersiones de saligenina 10^{-4} y 10^{-3} M sobre la transpiración	53
9	Efecto de aspersiones de salicilaldoxima 10^{-5} a 10^{-2} M + glicerol sobre la transpiración.	54
10	Efecto de aspersiones de ácido palmitoil sa	

	licflico (APS) + glicerol sobre la trans piración	55
11	Condiciones ambientales que prevalecieron durante la investigación	56

LISTA DE CUADROS DEL APENDICE

CUADRO		PAG.
1	Curva dosis-respuesta de ácido salicílico (10^{-5} a 10^{-3} M) + ptyac o glicerol a pH 6.0 sobre transpiración de frijol. Hecho en cámara de crecimiento.	77
2	Curva dosis-respuesta de ácido salicílico (2×10^{-3} a 8×10^{-3} M) + ptyac o glicerol a pH 6.0. Hecho en cámara de crecimiento.	78
3	Curva dosis-respuesta de ácido salicílico (2×10^{-3} a 8×10^{-3} M) + glicerol pH 6.0. Hecho en invernadero.	79
4	Efecto del ácido salicílico y sus análogos (3×10^{-3} M) + ptyac o glicerol. Hecho en cámara de crecimiento.	80
5	Efecto del ácido salicílico y sus análogos (3×10^{-3} M) + ptyac o glicerol. Hecho en invernadero.	81
6	Efecto de saligenina 10^{-3} y 10^{-4} M + ptyac o glicerol pH 6.6. Hecho en cámara de crecimiento.	82
7	Efecto de saligenina 10^{-3} y 10^{-4} M + ptyac o glicerol pH 6.6. Hecho en cámara de crecimiento.	83
8	Curva dosis-respuesta de salicilaldoxima (10^{-5} a 10^{-2} M) + glicerol pH 6.5. Hecho en cámara de crecimiento.	84

- 9 Curva dosis-respuesta de salicilaldoxima
(10^{-5} a 10^{-2} M) + glicerol pH 6.5. Hecho en
invernadero. 85
- 10 Curva dosis-respuesta de ácido palmitoil sa
licílico (10^{-5} a 10^{-3} M) + glicerol pH 7.0
Hecho en cámara de crecimiento. 86
- 11 Curva dosis-respuesta de ácido palmitoil sa
licílico (10^{-5} a 10^{-3} M) + glicerol pH 7.0
Hecho en invernadero. 87

A B R E V I A C I O N E S

AAS	Acido acetil salicilico
AS	Acido salicilico
APS	Acido palmitoil salicilico
ABA	Acido abscisico
AFM	Acetato fenilmercúrico
AIA	Acido indol acético
2,4-D	Acido 2,4-diclorofenoxiacético
CO ₂	Bióxido de carbono
K ⁺	Ión potasio
H ₂ CO ₃	Acido carbónico
DPN	Di fosfopiridina nucleotido

RESUMEN:

Basados en experiencias anteriores llevadas a cabo en estos laboratorios y que señalan que: salicilaldoxima, saligenina, APS y AS, redujeron la transpiración de explantes de frijol, se planteó: Estudiar el efecto de estas sustancias sobre la transpiración de plántulas intactas de frijol Phaseolus vulgaris L. cv. Cacahuatate-72 bajo condiciones de cámara de crecimiento e invernadero. Las plántulas fueron cultivadas en el invernadero en vasos de unicel hasta la edad de 13 a 14 días después de la siembra. Posteriormente 24 hs. antes del experimento la mitad de las plantas fueron transferidas a una cámara de crecimiento y la otra mitad se dejó en el invernadero. Después de las 24 hs. de aclimatación se cubrió el vaso con papel aluminio ("sistema básico"), se estimó el peso inicial y se llevó a un mismo peso agregándoles el agua necesaria (aproximadamente a capacidad de campo). Se asperjaron las soluciones en ambas superficies de las hojas (hojas simples).

La transpiración fue calculada como sigue:

$$T = \text{Transpiración (mg H}_2\text{O cm}^{-2} \text{ hoja/ 24 ó 48 horas.}$$

$$T = \frac{P_i - P_f}{A_f} \quad \text{donde:}$$

P_i = Peso inicial del sistema
 P_f = Peso final del sistema
 A_f = Área foliar de la plántula de frijol

Los experimentos llevados a cabo para analizar el efecto antitranspirante fueron:

- 1) Curva dosis-respuesta de AS (10^{-5} a 10^{-3} M) + glyac o glicerol.

- II) Curva dosis-respuesta de AS (2×10^{-3} a 8×10^{-3} M) + plyac o glicerol.
- III) Efecto de AS y sus análogos (3×10^{-3} M) + plyac o glicerol.
- IV) Efecto de saligenina (10^{-4} y 10^{-3} M) + plyac o glicerol.
- V) Curva dosis-respuesta de salicilaldoxima (10^{-5} a 10^{-2} M) + glicerol.
- VI) Curva dosis-respuesta de APS (10^{-5} a 10^{-3} M) + glicerol.

De los resultados obtenidos con diferencia significativa y sin fitotoxicidad fueron los siguientes:

En el experimento I) el tratamiento 10^{-3} M de AS + glicerol redujo la transpiración en un 11 %.

En el experimento II) bajo condiciones de cámara de crecimiento 4×10^{-3} y 6×10^{-3} M de AS + plyac redujeron la transpiración en un 9 y 11 % respectivamente. En invernadero 2×10^{-3} M de AS + glicerol redujo la transpiración en un 10 %.

En el experimento III) bajo condiciones de cámara de crecimiento el AS, APS y salicilaldoxima (3×10^{-3} M + glicerol) redujeron la transpiración en un 11, 6 y 2 % respectivamente. Cuando se aplicó AS + plyac se redujo en 14 % la transpiración. En invernadero el AS con plyac o glicerol redujo la transpiración en 10 y 12 % respectivamente.

En el experimento IV) bajo condiciones de cámara de crecimiento la saligenina 10^{-3} M + glicerol incrementó la transpiración en un 6 %.

En el experimento V) bajo condiciones de invernadero la salicilaldoxima 10^{-3} y 10^{-2} M + glicerol redujeron la transpiración en 6 y 17 % respectivamente.

I. INTRODUCCION

El 85% de cultivos básicos se siembran bajo condiciones de temporal, esto es, bajo condiciones en las que la producción depende del régimen de lluvias. El frijol y maíz son de los cultivos que en México están sujetos a estas condiciones. Por otro lado, se sabe que la falta de agua es el factor más limitante en la producción, dando lugar al déficit hídrico de las plantas.

Puesto que bajo condiciones de temporal malo la producción de los cultivos se limita, varias son las estrategias planteadas por los investigadores encaminadas a la búsqueda de soluciones que redunden en un ahorro de agua por estos cultivos.

Una de las estrategias empleadas ha sido el uso de anti-transpirantes (ya sea aplicado en forma de barrera física o metabólica) que tienen como papel fundamental reducir la pérdida de agua debida a la transpiración, ya que se ha encontrado que generalmente el 99% de agua que absorben las plantas mesófitas es transpirada a través de los estomas.

Se han probado un sinnúmero de sustancias que actuen como antitranspirantes, dentro de los cuales destacan el CO_2 y el ABA (inhibidores naturales de la transpiración) que ofrecen la mayor capacidad de regular la apertura estomatal, pero no garantizan su utilidad de manera eficaz y económica en el campo.

En trabajos realizados sobre este tema se ha propuesto al AAS, AS y algunos análogos tales como salicilaldoxima, saligenina y ácido palmítoil salicílico como posibles antitrans

pirantes, ya que reducen la pérdida de agua de explantes y/o plantas intactas de frijol (Phaseolus vulgaris L.); a su vez el AAS causa una reducción de la apertura estomatal en epidermis de Commelina communis L. (Larqué-Saavedra 1978, 1979; De León 1979; Trejo 1981 y Andrade 1981).

Con el fin de aportar más conocimientos sobre el efecto antitranspirante de los análogos del AS, en el presente trabajo se planteó el siguiente objetivo: Estudiar el efecto de aspersiones de salicilaldoxima, saligenina, ácido palmítico salicílico y ácido salicílico sobre la transpiración de plántulas intactas de frijol (Phaseolus vulgaris L. cv. Caca huate-72).

II. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1) Descripción del frijol Phaseolus vulgaris L.

Pertenece a la familia Leguminosae, sub familia Papilionoideae, tribu Phaseoleae, sub tribu Phaseolinae y género Phaseolus. Es una familia que cuenta con más de 550 géneros y unas 1500 especies, repartidas en todo el mundo.

El género Phaseolus cuenta con 180 especies aproximadamente, de las cuales, se pueden encontrar 50 en México. Las principales especies que se cultivan en nuestro país son: Phaseolus vulgaris L. (frijol común), P. coccineus L. (frijol ayocote), P. lunatus L. (frijol lima) y P. acutifolius Gray (frijol tepary). La especie más importante para la alimentación en nuestro país es Phaseolus vulgaris L. (Miranda 1979).

El frijol tiene gran importancia debido a que se utiliza en México como alimento básico. Además, ocupa el segundo lugar en importancia después del maíz, por la superficie dedicada a su cultivo. En 1981 la superficie cultivada de frijol fue de 2150164 hectáreas, de las cuales se obtuvo una producción de 1469021 toneladas. Del total de la superficie cultivada el 97% se cultivó bajo condiciones de temporal (2085859 hectáreas con una producción de 961594 toneladas o sea el 65% de la producción total). Por ésto, se están desarrollando trabajos encaminados a tratar de resolver los problemas que enfrenta este cultivo bajo estas condiciones.

Es una de las plantas con mayor calidad alimenticia que se conoce, ya que es una fuente de proteínas que se consigue a bajo precio; además, es una de las plantas más a-

provechadas, se comen sus flores, sus vainas frescas (ejotes), las semillas tiernas y secas. La planta sirve como abono; durante su desarrollo fija nitrógeno al suelo (45 Kg de N/ha/año). El contenido de proteína y triptofano en 100 g. de materia seca es de 22.47 y 0.281 grs. respectivamente. Presenta dos hojas simples opuestas y el resto son compuestas alternas. Los estomas se encuentran en ambas superficies de la hoja (hojas anfiestomáticas). Se cultiva en lugares que oscilan entre los cero y 2200 metros sobre el nivel del mar, pero en general crece en climas templados y cálido húmedo. Crece en todo tipo de suelos, sin exceso de sales ni encharcamientos, aunque se da mejor en los ligeros, no crece bien en tierras muy ácidas o alcalinas.

2.2) Características de Phaseolus vulgaris L. cv. Caca-huate - 72.

Es un híbrido del cual no se conocen sus progenitores, su ciclo de vida es de 99 días, la floración ocurre entre los 39 y 41 días después de la emergencia; su habito es determinado; es una planta C-3 (sus productos primarios de la fijación de CO_2 en la fotosíntesis son moléculas de 3 carbonos: fosfoglicerato y fosfoglicolato). Se reporta un rendimiento de 2.152 toneladas por hectárea, bajo riego y 0.60 toneladas/ha. en temporal.

Esta variedad se siembra en la Mesa Central del país en condiciones de temporal y riego. Se emplean de 40 a 60 Kg. de semilla/ha. También se cultiva en el Edo. de México, Guerrero, Morelos y Puebla (López 1972; Díaz 1974).

2.3) Importancia del agua y Transpiración de las plantas.

El agua en las plantas juega un papel importante como: constituyente del protoplasma (85-90% de peso fresco), reactivo en varios procesos fisiológicos, incluyendo fotosíntesis y procesos hidrolíticos, disolvente (con el cual, minerales, gases y otros solutos entran a las plantas y se mueven de célula a célula dentro de ellas, etc.).

En general el 99% del agua que absorben las plantas mesófitas pasa a la atmósfera en forma de vapor, por el proceso fisiológico llamado transpiración y menos del 1% es usada por la planta en las diferentes funciones ya mencionadas.

La transpiración ha sido planteada como un "mal inevitable" que no parece benéfica desde el punto de vista fisiológico (Curtis 1926). Es inevitable por la estructura de las plantas, ya que sus paredes celulares son permeables al agua, de esta manera el agua pasa por la planta sin ser metabolizada (Coudret y Ferron 1977) y expulsada en forma de vapor a través de los estomas y estructuras no cutinizadas. Es un "mal" porque a menudo es la responsable del déficit de agua en las plantas, afectando la fotosíntesis y reduciendo el crecimiento, pudiendo causar la muerte. Sin embargo, también se señala que la transpiración juega un papel esencial en la absorción y translocación de minerales para el crecimiento normal de las plantas y para enfriar a las hojas manteniéndolas a una temperatura adecuada (Clements 1934; Raschke 1960; Gates 1964 y Milburn 1979). No obstante, sólo bajo

condiciones extremas, éstos procesos pueden ser afectados significativamente (Kramer 1959; Gale y Hagan 1966).

La transpiración se lleva a cabo por: lenticelas, estructuras jóvenes sin cutícula impermeable y estomas.

Las lenticelas ocupan sólo el 2% de la superficie, la transpiración que se lleva a cabo por estas estructuras es poco importante, sin embargo, puede causar daño durante el invierno a árboles perenes ya que causa déficit hídrico.

La transpiración cuticular se lleva a cabo a través de las células epidérmicas de hojas y tallos herbáceos, no obstante que la superficie de éstas células está cubierta por la cutícula (capa de cutina de variado grosor), la cual es impermeable al agua, y sin embargo algo de agua se escapa a través de hendiduras o partes no cutinizadas. Este tipo de transpiración solamente ocasiona daño cuando las plantas son expuestas a condiciones favorables para una rápida transpiración creando así déficit de agua (Stålfelt 1956 citado por Kramer 1959).

La transpiración estomatal se lleva a cabo a través de los estomas; éstos son poros circundados por un par de células de cierre (también llamadas células oclusivas, estomáticas o guardas) que están en la epidermis. Los estomas ocupan del 1-2% de la superficie de la hoja. No obstante, es por estos sitios por donde se pierde la mayor cantidad de agua, porque es la vía de menos resistencia a la difusión de vapor de agua y otros gases.

La tasa de transpiración es en gran medida variable porque es afectada por muchos factores internos y extern-

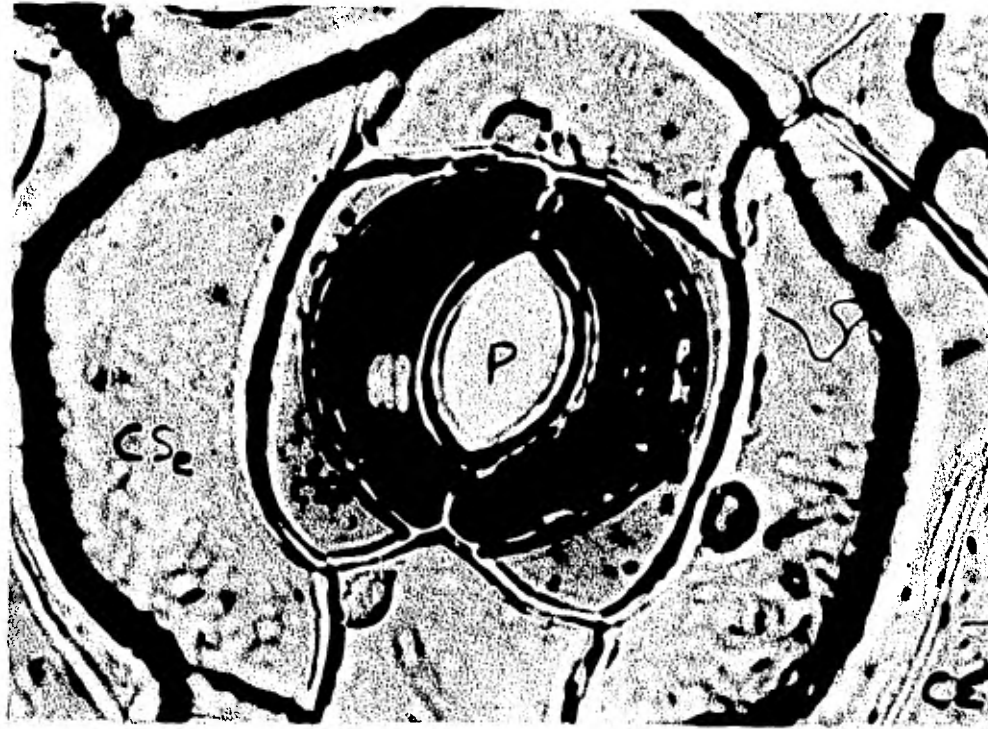
nos. Stocker 1956 (citado por Kramer 1959) resumió a estos en:

a) Factores internos: como la estructura de la hoja (cutícula gruesa o delgada, doble capa de células en empalizadas o una capa simple, pequeños espacios intercelulares o grandes); la frecuencia de estomas y su localización; el tamaño y forma de las hojas; proporción raíz/tallo y el contenido de agua de la planta.

b) Factores ambientales: como humedad y temperatura del aire, velocidad del viento, luz, acumulación de polvo en las hojas, materiales asperjados y lo más importante, abastecimiento de agua en el suelo.

2.4) Anatomía y las diversas hipótesis explicativas del modo de acción de los estomas.

Los estomas son poros diminutos que se encuentran en la epidermis, circundados por un par de células especializadas llamadas células de cierre; las células epidérmicas adyacentes a éstas células se pueden diferenciar en forma y ontogenia de las demás células epidérmicas y suelen llamarse células subsidiarias. Actualmente a éste conjunto de células y el poro estomatal se le llama aparato estomático (Cutter 1978), (Figura 1). Generalmente las células de cierre tienen cloroplastos, presentan un engrosamiento en sus paredes de la parte interna del poro y hay una micelación radial que contribuyen a llevar a cabo el movimiento de apertura y cierre (Meidner y Mansfield 1968). Esto es, cuando la presión de turgencia en el interior de las células de cierre se incrementa y las células llegan a estar túridas, hace que las paredes



P = Poro estomatal CC = Célula de cierre
CS_i = Célula subsidiaria interna
CS_e = Célula subsidiaria externa
GE = Célula epidérmica

Fig. 1. Estoma abierto de Commelina communis L.
Cortesía de Larqué-Saavedra.

engrosadas se separen para formar un poro. En cambio, cuando la presión de turgencia disminuye, las células de cierre llegan a estar flácidas, las paredes engrosadas se juntan y los poros se cierran.

Los estomas comúnmente están localizados en la epidermis de las hojas, aunque también se pueden encontrar en la epidermis de otros órganos aéreos de las plantas, incluyendo tallos, flores y frutos. Básicamente los estomas de las hojas flotantes de hidrofítas están en la superficie superior, en árboles tienden a estar en la epidermis inferior, en plantas herbáceas se encuentran sobre ambas superficies; en plantas xerófitas están ocultos en criptas y rodeados de tricomas.

En el frijol y en muchas especies de dicotiledóneas, los estomas son de forma elíptica y en pastos tienen forma semejante a un paralelepípedo. El número de estomas por unidad de área foliar no solamente varía entre especies sino que también varía dependiendo del medio en que se han desarrollado las plantas. En frijol la densidad por cm^2 de hoja en el lado abaxial (superficie inferior) oscila alrededor de 24 960 y del lado adaxial (superficie superior) 4 413 (Gustafson 1956).

El movimiento estomatal es afectado por factores internos (Cuadro 1) y ambientales (Cuadro 2).

Cuando los factores ambientales se presentan en valores opuestos a los señalados (Cuadro 2) se promueve el cierre estomatal. Sin embargo, las plantas CAM pueden ser las excepciones, ya que no siguen estas reglas. Estos factores deben ser aplicados cautelosamente ya que muchos de

ellos están interactuando (Milburn 1979).

Cuadro 1. Factores internos que influyen en la fisiología de las células de cierre.

Factores internos cuando el estoma está cerrado	Cambios en los factores internos que promueven la apertura estomatal
Balance de protones con pH 5	Incremento a pH 6
Balance de cationes bajo, especialmente K^+	Se incrementa
Presión de turgencia bajo, alrededor de 5 barías	Se incrementa alrededor de 8 barías
Rango de potencial osmótico de -6 a -25 barías	Se incrementa un poco (ej. de -6 a -4 barías)
Concentración de ATP alto (con ATPasa)	Disminuye cuando el ADP es formado
Depositación de almidón alto	Disminuye
Concentración de azúcar bajo	Incremento

Cuadro 2. Factores ambientales que promueven la apertura estomatal.

Factores ambientales que actúan sobre los estomas	Cambios para promover la apertura	Valores típicos normalmente abarcados
1) Luz	Incrementada	0 a 1000 Wm ⁻²
2) Temperatura	"	20 a 40°C
3) Potencial de agua de la hoja	"	-7 a -5 barías
4) Humedad del aire	"	30 a 95% H.R.
5) Toxinas fúngicas (ej. fusicocina)	"	0 a 10 µM
6) Concentración de CO ₂	Disminuida	0.033 a 0.01% X volumen
7) Presión del tejido (cél. epidérmicas)	"	Pocas barías
8) Concentración de ABA en savia	"	10 ⁻³ M baja a 10 ⁻⁸ M
9) Contaminantes atmosféricos (ej. SO ₂)	"	0 a 2.5X10 ⁻⁵ % X volumen
10) Inhibidores metabólicos (ej. DPN)	"	_____

Louquet (1974) hizo un estudio crítico de las principales teorías que explican la complejidad del movimiento de los estomas. Las teorías estudiadas fueron: a) la clásica en donde se habla de las variaciones de presión osmótica en las células de cierre sobre la acción directa de la luz; b) la hormonal (acción del ácido abscísico) y c) la de intercambio de iones (intercambio entre H^+ , K^+ y aniones orgánicos).

a) La teoría clásica propuesta por Sayre 1926 (citado por De León 1979) se refiere a que el movimiento de los estomas es afectado por la conversión almidón \rightleftharpoons azúcar. Esta teoría la relacionan con la fotosíntesis que parece ser necesaria para la apertura estomatal. El resultado de la fotosíntesis en presencia de luz es una reducción en la concentración de CO_2 y H_2CO_3 , como consecuencia el pH se incrementa a 6; se hidrolisa el almidón produciendo glucosa y disminuye el potencial de agua en las células de cierre; esto da lugar al movimiento de agua de las células subsidiarias a las de cierre (por difusión). Como resultado, la presión de turgencia de éstas células se incrementa causando la apertura de los estomas. En la obscuridad, ocurre lo inverso a esta situación, esto es: la fotosíntesis se detiene, la respiración libera CO_2 y H_2CO_3 , disminuye el pH y el azúcar es convertida a almidón, por lo tanto los estomas se cierran. Esta teoría no es convincente debido a que no existe una estrecha relación en el contenido de almidón de las células de cierre y la apertura estomatal ya que se ha demostrado que los estomas de cebolla (Allium cepa) no contienen almidón y

sin embargo, responden normalmente a la luz. Además, la reacción de conversión de almidón a glucosa resulta demasiado lenta para los movimientos estomatales de la mayoría de las plantas (Fujino 1967).

b) La teoría hormonal.- En esta teoría se propone que el movimiento de los estomas es provocado por una hormona el ABA (Little y Eidt 1968). La mayoría de los autores han observado un paralelismo entre el aumento del contenido de ABA y el aumento del contenido en almidón en las células de cierre, la disminución del contenido de potasio y de la presión osmótica, lo cual tiende al cierre estomático (Wright y Hiron 1969; Allaway y Mansfield 1970; Mansfield y Jones 1971).

c) La teoría iónica.- Iljin 1922 y Mamura 1943 (citados por Coudret y Ferron 1977), concluyeron que hay un transporte activo de iones dentro y fuera de las células de cierre resultante de cambios de presión osmótica. Fisher (1968) comprobó el efecto catalítico de la absorción de potasio por las células de cierre sobre la apertura estomática en respuesta a la luz y a una atmósfera privada de CO_2 . Fisher y Hsiao (1968) sugieren que la absorción activa de potasio por las células de cierre es de hecho el mecanismo primario de la apertura estomática, el cual afecta directamente el incremento de la presión osmótica de las células de cierre e indirectamente se incrementa el pH, que implica un cambio de protones en el medio celular. Fujino 1967 y Fisher 1971 confirmaron el grado de apertura de estomas en relación al contenido de potasio en las células de cierre; la acumulación de K^+ en estas células hace que se mantenga abierto el estoma (Ma-

thur y Sen 1972). Levitt ha sugerido desde 1967 un intercambio de K^+ por H^+ lo que daría como consecuencia una estimulación de la hidrólisis del almidón donde habría producción de aniones orgánicos compensadores como el malato. Esta interpretación conduce a Levitt (1974) a considerar un transporte de protones que intervengan en los movimientos estomáticos: por lo que habría modificación de potencial transmembranal de cloroplastos y del plasmalema en las células de cierre y el sitio de funcionamiento de enzimas fotosintéticas. En relación a esto, Willmer et al. 1973 (citado por Coudret y Ferron 1977) detectaron que la concentración de carboxilasa fosfoenolpirúvica se encontraba elevada en el citoplasma de células de cierre en 2 especies de tipo C-3: Tulipa gesneriana y Commelina communis. El funcionamiento de esta enzima asociada a la ribulosa 1,5-difosfato carboxilasa en los cloroplastos se traduce en la síntesis de aniones orgánicos a los cuales se les atribuye el mantenimiento del balance iónico en el citoplasma; este papel es en efecto necesario para el intercambio de cationes (H^+ , K^+) cuyas consecuencias puede ser resumido así: "la bomba de protones" atraída por las fotofosforilaciones es el origen de un transporte de protones del citoplasma hacia los cloroplastos, como consecuencia ocurre una alcalinización del citoplasma que induce la conversión del CO_2 en ácido carbónico, sustrato de la PEP-carboxilasa que sirve para la síntesis de ácidos dicarboxílicos. Según la concentración de CO_2 que difunde en la célula estomática y según el valor correspondiente del pH celular, dos casos se pueden presentar: a) la ionización del ácido sintetizado, desequilibra el balance iónico del citoplasma

estableciendo un potencial transmembranal negativo en el plasmalema inverso a la célula subsidiaria (esto es el origen de una entrada de K^+ a partir de la célula subsidiaria a las células de cierre); b) la combinación del anión orgánico y de protones, regenera la molécula del ácido orgánico que difunde en los cloroplastos, esto da origen a la descarboxilación del substrato CO_2 de la PEP-carboxilasa; como consecuencia hay un desequilibrio del balance iónico del citoplasma estableciendo un potencial transmembranal positivo con respecto al plasmalema vecino de la célula subsidiaria (entonces hay una salida de K^+ de las células de cierre). En el caso de entrada de K^+ hay aumento de la presión osmótica en las células de cierre conduciendo a la apertura de los estomas; por otro lado, en la salida de K^+ ocurre lo inverso, conduciendo al cierre de estomas.

El malato puede ser el anión que balancee, puesto que se acumula en las células de cierre cuando los estomas están abiertos (Allaway 1973).

Bowling (1976) en un estudio sobre el funcionamiento estomático de Commelina communis atribuyó un papel preponderante al ácido málico. Los ácidos orgánicos como el málico pueden provenir de las descarboxilaciones intensas debido a la presencia simultánea de PEP-carboxilasa en el citoplasma y la RuDP-carboxilasa en el cloroplasto, o bien de fuertes degradaciones oxidativas debido a actividades respiratorias importantes. Pearson y Milthorpe (1974) establecieron una correlación entre la apertura estomática y la concentración de ácido málico. Ellos explican el movimiento de los estomas de la siguiente manera: cuando los estomas están

abiertos hay movimiento de agua y de potasio hacia el interior de las células de cierre (esto hace que se aumente su volumen y se abran); la presión de turgencia se incrementa y las células están túrgidas. Cuando los estomas se cierran sale el agua, la presión de turgencia disminuye, el potasio pasa a las células subsidiarias y el ácido málico entra al ciclo de Krebs produciendo almidón.

Dittrich y Raschke (1977) concluyen que el ácido málico lo pueden producir las células de cierre mediante 3 procesos que ocurren simultáneamente: a) oxidación en el ciclo de Krebs; b) gluconeogénesis y c) liberación específica por medio de otras actividades respiratorias. En cuanto a ésto último han sido observadas (Pearson y Milthorpe 1974) numerosas mitocondrias altamente diferenciadas cuya proporción en las células de cierre es 3 veces más elevada que el contenido de cloroplastos.

Travis y Mansfield (1977) concluyen que el transporte de ácido málico hacia y, de las células subsidiarias no es una parte esencial del mecanismo de apertura y cierre estomatal. Los mismos autores observaron que los cambios en la concentración de CO_2 (dentro de 0 a 100 ppm) no afectó la apertura estomatal ni los niveles de ácido málico en epidermis de Commelina communis lo que sugiere que la carboxilación del fosfoenolpiruvato no juega un papel principal en la formación de ácido málico en las células de cierre.

El mecanismo de apertura y cierre estomatal y la forma en que se incrementa la concentración de solutos dentro de las células de cierre, todavía es materia de controversia. Sin embargo, actualmente se considera que la acumu-

lación de K^+ en las células de cierre, es la causa principal de cambios de turgencia que inducen la apertura estomatal.

La intensidad de la transpiración estomatal depende de estos mecanismos que intervienen en la apertura estomatal. No solamente estos mecanismos se alteran por factores tales como la intensidad de la luz, concentración de CO_2 y déficit de agua, sino que también por una gran diversidad de sustancias que tienen una actividad de tipo hormonal y/o metabólica, incluyendo en particular muchos inhibidores metabólicos (Heath 1959; Ketellaper 1963).

2.5) Control exógeno del movimiento de estomas.

Solamente el camino por el cual se puede controlar la pérdida de agua es la vía del movimiento estomatal (Davies y Mansfield 1978). Uno de los medios para este control ha sido la aplicación sobre las hojas de un gran número de sustancias. Básicamente estos mecanismos de control estomatal son adaptados para el mantenimiento de la integridad de la planta en un ambiente esencialmente hostil. No obstante, esta búsqueda tiene que estar restringida para que no afecte la tasa fotosintética y así obtener una eficiencia de uso de agua de la planta. Esto es, que la transpiración sea reducida, pero no la tasa de crecimiento lo que indicaría que el tratamiento que se está aplicando actúe específicamente sobre el estoma y no sobre el aparato fotosintético (Jones y Mansfield 1972).

Los antitranspirantes son productos químicos capaces de reducir la tasa de transpiración cuando son aplicados al follaje de la planta (Davenport et al. 1969).

es el ABA (regulador de crecimiento que interviene en una serie de procesos vegetales que van desde el letargo de la semilla hasta la abscisión de órganos vegetales), el cual parece tener un papel determinante en el movimiento de los estomas (Coudret y Ferron 1977).

Wright y Hiron (1969) encontraron que hay una acumulación de ABA paralelamente al cierre de estomas cuando las plantas fueron sometidas a tratamientos de sequía. Posteriormente Larqué-Saavedra y Wain (1976) encontraron que las plantas de maíz que toleran más a la sequía son las que contienen altos niveles de ABA. Ogunkanmi et al. (1973) encontraron que la aplicación exógena de ABA a epidermis desprendida de Commelina communis induce el cierre estomatal. Uehara et al. (1975) y Ackerson (1980) también encontraron lo mismo pero vía peciolo en hojas de Brassica rapa y algodón. El mismo efecto se encontró cuando el ABA fue aplicado en la superficie de las hojas, esta acción se prolongó por 9 días encontrándose una reducción del 50% en la cantidad de agua transpirada y sin afectarse la tasa de crecimiento (Jones y Mansfield 1972). Los mismos autores demostraron que los ésteres fenil y metil del ABA son igualmente activos. Uehara et al. (1975) probaron algunos derivados con el grupo aldehído, hidroximetilo y metilo (sustituyen al grupo carboxilo terminal) vía peciolo para inducir el cierre estomatal. Solamente el derivado metilo no tuvo efecto. Concluyen que si el grupo metilo hidrófobo, es inactivo en el cierre de los estomas, el carácter hidrófilo del grupo terminal es esencial para tal actividad.

La acción antitranspirante del ABA se confirma

con el trabajo de Tal e Imber (1970), en donde reportan una variedad mutante de jitomate, la cual tiende a marchitarse rápidamente debido a que no tiene la facultad de producir ABA y por consiguiente no puede cerrar sus estomas.

La inducción del cierre estomatal por el ABA (ya sea endógeno o exógeno), es debido a la inhibición del flujo de iones potasio hacia el interior de las células de cierre (Horton y Moran 1972).

En estudios hechos por Glinka y Reinhold (1971) encuentran que el ABA altera la permeabilidad de los tejidos de raíz por tanto se cree que también se altera la permeabilidad a los tejidos del tallo y hojas.

Addicott y Lyon (1969) encontraron que las plantas metabolizan rápidamente el ABA. Esto limita su potencial como un producto químico para la agricultura. Además, hay pocas posibilidades que el costo de síntesis de ABA sea reducido al punto donde sea factible para uso a gran escala en la agricultura. Esto abre nuevas posibilidades para el estudio de otras sustancias que tengan propiedades fisiológicas como el ABA, ésto es, que provoquen el cierre de los es tomas sin dañar a las células de cierre; que actúen en forma directa sobre la apertura estomatal y que causen el cierre estomatal a través de una salida de iones potasio de las células de cierre; además, que puedan ser sintetizadas y produ cidas comercialmente a costo razonable.

Algunas sustancias que se encuentran naturalmente en las plantas han sido probadas para este fin.

Ogunkanmi et al. (1974) encontraron compuestos

endógenos capaces de inducir el cierre estomatal en plantas que estuvieron sujetas a stress hídrico, uno de ellos es el ABA, pero aparte de éste encontraron el transfarnesol, un alcohol isopropenoide que al igual que el ABA es un sesquiterpenoide. Cuando se aplicó exógenamente el farnesol comercial a epidermis desprendida de *C. communis* se indujo el cierre estomatal. Wellburn et al. (1974) analizando extractos de *Sorghum sudanense* que estuvieron sujetos a stress hídrico, encontraron incrementos en los niveles del transfarnesol. Willson y Davies (1979) también encontraron altos niveles de farnesol al estar las plantas sujetas a un stress hídrico.

El farnesol tal vez no sea un antitranspirante, sino, que más bien altera la permeabilidad de la membrana de los cloroplastos, permitiendo que salga el ABA hacia el citoplasma de las células de cierre y de esta manera se lleva a cabo el cierre estomatal.

La aplicación exógena de estos compuestos (todos los transfarnesol) indujeron el cierre estomatal a plantas de sorgo, con proporción similar a la reducción en transpiración y fotosíntesis (Fenton et al. 1977).

Lo importante de estos dos compuestos (ABA y transfarnesol) son las bajas concentraciones que se requieren para producir dicho efecto.

Otro compuesto que también se encuentra endógenamente en las plantas (salicaceas, pirolaceas) es el ácido salicílico en forma libre, formando ésteres o en forma de glucósido; éste al aplicarlo exógenamente a plántulas de frijol redujo la transpiración (Trejo 1981).

También han sido probados algunos compuestos sintéticos para inducir el cierre parcial. Estos deben tener ciertas características, tales como: baja movilidad dentro de las plantas e idealmente deben estar limitados a la epidermis de la hoja para evitar efectos tóxicos a otros sistemas (Gale y Hagan 1966).

Existen además, los inhibidores metabólicos (particularmente inhibidores de la oxidación del glicolato) como los hidrosulfonados (Zelitch 1961); o fungicidas como el AFM (Zelitch y Waggoner 1962); o el 2,4-D.

El AFM ha sido el más investigado (Davies y Mansfield 1978; Jones y Mansfield 1972; Davenport et al. 1969; Slatyer y Bierhuizen 1964) éstos últimos encontraron reducción de la transpiración durante 27 días hasta en un 40% en plantas de algodón.

Este compuesto ha sido el más prometedor para provocar el cierre de estomas, reduciendo en forma significativa la transpiración. Sin embargo, experiencias con este compuesto no han sido del todo satisfactorias (Mansfield 1978). Tucker y Mansfield (1971) al probarlo en ensayos de campo encontraron reducción en la fotosíntesis y en la transpiración, pero con fitotoxicidad. Zelitch (1963) al probarlo vía peciolo no observó cierre estomatal, esto tal vez se deba a que la acción de éste reactivo es muy ligera o que los reactivos no son transportados a las células de cierre de los estomas. Patil y Rajat De (1976) al utilizarlo junto con kaolinita (antitranspirante que forma una película) encontraron reducción en la transpiración e incremento en la

producción de materia seca. No obstante, ellos no lo recomiendan para usos prácticos por su contenido de mercurio que lo hace un contaminante peligroso (Jones y Mansfield 1970).

Una de las dificultades que presentan éstos compuestos es que no se asegura su penetración a través de las barreras que presenta la morfología de la hoja. Sin embargo, ya se han hecho variados estudios para promover la penetración por medio de humectantes o sustancias tensoactivas.

Las ventajas que se les encuentra a éstos compuestos que inducen el cierre parcial de los estomas (inhibidores metabólicos) es que son efectivos a concentraciones muy bajas y por tanto es menos caro usarlos que los antitranspirantes que forman una barrera física. Además, si tuvieran poder "residual" (que el efecto dure) no se requerirían muchas aplicaciones como sería para el caso de compuestos que forman una película.

2) Materiales reflejantes.- No causan un bloqueo a los poros estomatales siempre y cuando éstos sean aplicados en la superficie adaxial de las hojas. Sin embargo, la capa de este material puede reducir la fotosíntesis en días cuando la luz es limitada (Davenport et al. 1969).

3) Compuestos que forman una película o capa sobre la superficie de las hojas.- Este grupo incluye emulsiones de cera por ejemplo los antitranspirantes comerciales: Vapor Gard, Folicote (Lipe y Thomas 1980); su método de aplicación es muy complicado para obtener un adecuado cubrimiento, el cual si no existe, se obtienen resultados contraproducentes (incremento de transpiración). Las ceras polivinili-

cas, polietileno, acrilato vinílico, Mobileaf, Kaolinita, películas monomoleculares como el hexadecanol y otros alcoholes también se incluyen aquí.

Una de las ventajas de este tipo de compuesto es que no causan fitotoxicidad. Sin embargo, como ellos ofrecen una resistencia al paso de vapor de agua, producen un incremento en el potencial de agua de la hoja por tanto se incrementa la turgidez de las células de cierre resultando así una mayor apertura estomatal y por consiguiente una mayor transpiración (Davenport et al. 1969, 1972); o, presentan una mayor resistencia al CO_2 que al vapor de agua. Slatyer y Bierhuizen (1964) encontraron que se reduce más la fotosíntesis que la transpiración.

Las características que deben tener estos compuestos son: películas elásticas, que resistan a la degradación solar, oxidación, microorganismos, etc. Además, deben ser baratos y fáciles de aplicar. Todas estas características no son fáciles de encontrar en tales compuestos (Gale y Hagan 1966), por lo cual no resultan convincentes (Mansfield 1978).

En conclusión, el principal problema práctico es el mejoramiento de antitranspirantes de tipo metabólico; para que no sean tóxicos, que su efecto sea persistente por varias semanas con una máxima reducción en transpiración y mínima reducción en fotosíntesis y desde luego la eficacia en el método de aplicación para campos de cultivo.

Los antitranspirantes, además ofrecen otras posibilidades de utilizarlos sobre otros procesos fisiológi-

cos como asegurar la sobrevivencia de las plantas transplantedas, conservar o incrementar la vida de flores cortadas, conservación de frutos, tolerancia a la sequía, como protector de sustancias contaminantes, defensa contra ataque de patógenos e insectos, etc. Sin embargo, el uso más importante es conservar el agua del suelo y así reducir la frecuencia de riegos, además de que incrementan el rango de ambientes en que se favorezca el crecimiento y producción de plantas sensibles al déficit de agua (Davenport 1969; Coudret y Ferron 1977).

2.6) Los salicilatos

a) Presencia en las plantas

El término salicilatos engloba a un grupo de compuestos los cuales presentan en común el radical 2-hidroxibenzoico en su molécula. El salicilato con más demanda desde el punto de vista farmacéutico es el AAS, el cual es comúnmente conocido como aspirina.

Los salicilatos se encuentran naturalmente en algunas especies de la familia de las salicáceas (Smith y Smith 1966). Se encuentran en forma de ésteres del ácido salicílico y glucósidos de alcohol salicílico; estos han sido aislados de : Salix, Spirae y Gaultheria (Collier 1963; Thomson 1978).

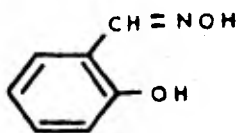
En maíz y centeno, Chou y Patrick (1976) reportan la presencia de salicilaldehído y ácido salicílico en la descomposición de estas plantas.

Ahmed y Sawhney (1977) reportan que el ácido salicílico y/o cumarina probablemente estén presentes en gra-

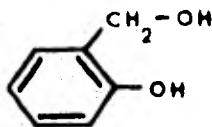
nos de trigo en germinación, ya que encontraron una actividad inhibitoria del crecimiento durante el tercer al quinto día de germinación. Esta actividad desaparece posteriormente.

b) Propiedades fisico-químicas de los salicilatos utilizados en la presente investigación

Salicilaldoxima; $C_7H_7NO_2$ P.M. 137.13 C 61.31%
H 5.15% N 10.21% O 23.33%. Este compuesto es ligeramente soluble en agua fría pero más soluble en agua caliente; completamente soluble en alcohol, éter, benceno y ácido clorhídrico diluido. Calentándose, se descompone en salicilaldehído e hidroxilamina.

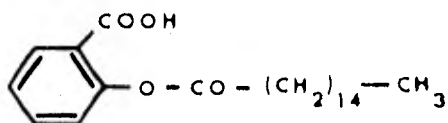


Saligenina: También llamado alcohol salicilo, saligenol o alcohol hidroxibencilo. $C_7H_8O_2$ P.M. 124.13
C 67.73% H 6.5% O 25.78%. Se obtiene por hidrólisis de salicina en medio ácido. Su punto de fusión 86-87°; sublima a 100°C. Es soluble en 15 partes de agua, muy soluble en alcohol, cloroformo, éter y benceno.



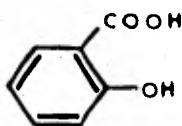
Acido palmitoil salicílico: $C_{23} H_{36} O_4$

P.M. 376.54, C 73.3% H 9.56% O 17.0%. Por ser una molécula con ácido graso se encontró que es insoluble en agua y soluble en hidróxido de potasio.



Acido salicílico: $C_7 H_6 O_3$ P.M. 138.12,

C 60.87% H 4.38% O 34.75%. Su densidad es 1.44, es poco soluble en agua, soluble en alcohol, acetona, cloroformo, éter benceno, glicerol, grasas y aceites. Compuesto que destaca como inhibidor de las plantas. Es clasificado dentro del grupo denominado ácidos fenólicos.



c) Aspectos fisiológicos

La presencia de salicilatos en plantas es bien conocido (Ibrahim y Towers 1960). Sin embargo, aún no se ha descrito el papel fisiológico que estos compuestos puedan tener dentro de la planta. Esto ha sido motivo para investigar sobre que fenómenos fisiológicos puedan actuar.

Recientemente se han hecho los siguientes estudios: La aspersión de AAS en los procesos de llenado de grano y abscisión en Phaseolus vulgaris no fueron determinantes (Ló

pez 1981), solamente se observaron tendencias a incrementar el peso de semilla, número de vainas normales y reducir la abscisión de vainas y el número de vainas vanas. Por otra parte, el AAS en trigo tiene la tendencia de reducir el efecto negativo del período de sequía sobre la producción del número de granos (García 1982), e incrementa la producción de grano en condiciones de riego como en sequía (Larqué-Saavedra datos no publicados). En otros trabajos (Datta y Nanda 1978) el AS incrementó la longitud y peso de grano/espiga en Triticale "T22" y al combinarse con ácido giberélico se observó el mismo efecto en mijo italiano (Nanda et al. 1977).

El AS actúa en la abscisión de algunos frutos; Weaver 1980, menciona que en cerezo, 500 ppm de AS produce la abscisión de los frutos y en olivo una concentración de 5% reduce significativamente el "amarre".

En extractos de la secreción del pulgón se ha encontrado AS, cuando éste se alimenta de partes vegetativas o florales de Xanthium strumarium. Al aplicar estos extractos a Lemna gibba G3 (planta de día largo) se indujo la floración sobre un margen de días largos y de días cortos (Cleland y Ajami 1974; Pieterse y Muller 1977). Sin embargo al aplicarlo a Xanthium (planta de día corto) no se indujo la floración. Se ha consignado que la floración de L. gibba es inhibida en un medio con amonio libre, pero se supera esta situación cuando se añade AS en el medio (Tanaka et al. 1979). El AS y el ferricianuro actúan sinérgicamente induciendo la floración en L. gibba (Tanaka y Cleland 1980).

Chou y Patrick (1976) citan que el AS inhibe la

germinación de semillas. También Ahmed y Sawhney (1977) encontraron una actividad inhibitoria en el crecimiento de granos de trigo durante el 3° al 5° día de la germinación, lo cual es debido a la presencia de AS y/o cumarina. Por otra parte, Nandi y Fries (1976) encontraron que el salicilato de etiló actúa como preservativo contra los hongos de trigo almacenado, sin que se viera afectada la germinación de estas semillas.

Larsson-Raźnikieswicz y Wiksell (1978) encontraron que la enzima fosfoglicerato quinasa se inhibe al aplicarse derivados del ácido salicílico (principalmente derivados con yodo), el más fuerte inhibidor fue el diiodo salicilato, siguiendo el monoiodosalicilato y salicilato; es evidente que una sobredosis de este inhibidor puede afectar el metabolismo de carbohidratos por la vía en la que se ocupa esta enzima.

La salicilaldoxima al usarse en concentraciones de 10 mM inhibe el transporte de electrones por una modificación reversible o irreversible del fotosistema II. Cuando se excede ésta concentración se puede causar daño irreversible; en la inhibición reversible se afectó la permeabilidad de la membrana de cloroplastos de espinaca (Golbeck 1980).

Al aplicar ácido salicilhidroxámico (10^{-4} M o en concentraciones más altas) a cortes de raíces de tomate se inhibió la respiración y el crecimiento, sin embargo en 10^{-5} M se estimuló el crecimiento hasta en un 18% sin afectar la respiración (Flores y Chin 1980); su efecto se manifestó después de 2 a 4 horas de la aplicación del tratamiento, mientras que

el efecto del KCN es después de 24 horas. En otros experimentos con salicilaldehído y AS (25, 50 y 100 ppm) se encontró un fuerte efecto inhibitorio en el crecimiento de plántulas de lechuga y con AAS (20 y 50 ppm) se inhibió el crecimiento de lenteja (Chou y Patrick 1976). Larqué-Saavedra (1975) al observar el efecto contrario del AAS con respecto a las prostaglandinas, encontró que altas concentraciones de AAS inhibieron el crecimiento de la raíz y del coleoptilo en trigo.

Wright (1978) encuentra la participación del AS en cultivos de tejidos vegetales, donde promueve la formación de brotes e inhibe la de callos, en medios con AIA y cinetina. Este autor menciona que el AS probablemente actúe sobre los sistemas enzimáticos que inactivan el AIA.

El AS altera la permeabilidad de la membrana de neuronas de moluscos, incrementando el paso de cationes (K^+) y reduciendo el de aniones (Cl^-) (Barker y Levitan 1971). En otro trabajo con el ácido 6 metilsalicílico (encontrado en los hongos Penicillium decumbens y P. urticae) en plantas superiores (trigo, cebada, maíz, frijol, etc.) se encontró alteración en la permeabilidad de la membrana e inhibición de la división celular (Berestetskü et al. 1978). En el trabajo desarrollado por Garcia (1979) se observa que el AS y AAS promueven la maduración fisiológica de frutos de jitomate; por causar una alteración en la permeabilidad de la membrana.

El AS al acumularse en la célula estimula la salida de K^+ (Hoeberichts et al. 1980). También se ha observa

do que el AS reduce significativamente la absorción de K^+ y otros iones en raíces cortadas de Hordeum vulgare (Glass 1974) y en raíces de avena (Harper y Balke 1981). Este último, explica que la inhibición de absorción de K^+ está en función del pH y la concentración del AS, su eficacia a una concentración 5×10^{-4} M se incrementó cuando se disminuyó el pH (4.5), sin embargo, la pérdida de turgidez y la carencia para recuperar la absorción de iones indican un daño permanente, efecto que no fue aparente a pH's 5.5, 6.5 y 7.5. El sugiere que la forma no disociada del AS (pK 3.0) es la causante del efecto inhibitorio, aunque hay la posibilidad que éste se disocie en el citoplasma, y en este caso la forma disociada es la causante del efecto.

En otros trabajos se encontró que el AS actúa sinérgicamente con auxinas en la promoción de enraizamiento en frijol (Letham et al. 1978; Basu 1972). En otra investigación (Gesto et al. 1977) al enraizar estacas de Salix viminalis (sauce), su extracto fue colectado y probado en el enraizamiento de frijol el cual se incrementó, al analizar el extracto se encontró saligenina. Por otro lado, Larqué-Saavedra (datos no publicados) demostró el efecto de los exudados de Salix caprea sobre la velocidad de transpiración en explantes de frijol, ésta se redujo hasta en un 41. % respecto al control. De la misma manera, Ballesteros (1982) demostró la reducción de transpiración por exudados de Salix caprea, S. babilónica y S. chilensis en un promedio de 41.2 % respecto al control.

La actividad antitranspirante de la salicilalde-

xima fue observada por 12 días en Datura arborea (floripondio) (Raghavendra y Das 1977).

Los estudios más directos del efecto antitranspirante de los salicilatos, se resumirán a continuación:

Larque-Saavedra (1978) consideró que los estomas pueden ser un buen sistema biológico para estudiar posibles efectos fisiológicos del AAS. Él usó 5×10^{-5} M de ABA como control y AAS 10^{-3} M. Al final de 10 horas los dos compuestos redujeron la pérdida de agua en 48 %. En estudios preliminares encontró que a más bajas concentraciones de AAS prácticamente no hubo efecto. Estos tratamientos fueron aplicados vía peciolo a plántulas de Phaseolus vulgaris. Él sugiere que el posible mecanismo de acción se debe a que se aumentan los niveles de CO_2 dentro de la hoja, induciendo así el cierre estomatal, esto tal vez sea debido a una estimulación de la respiración celular en relación a una alteración en la fosforilación oxidativa.

Larque-Saavedra (1979) observó el efecto directo del AAS sobre la apertura estomatal usando epidermis desprendidas de Commelina communis L. A concentraciones 10^{-2} y 10^{-3} M se cerraron completamente los estomas, a 10^{-4} y 10^{-5} M se redujo el 50 % de la apertura estomatal, 10^{-6} M en un 20 % y en concentraciones más bajas 10^{-7} y 10^{-8} M se observó mayor apertura estomatal. El tiempo necesario para inducir el cierre estomático total en 10^{-2} M fue de 13 minutos y en 10^{-3} M fue de 75 minutos.

De León (1979) usando epidermis desprendidas de C. communis y observando el efecto del AAS 10^{-2} M a diferen-

tes pH's, encontró que a pH superior a 5.5 el AAS no cierra los estomas, pero si con pH entre 4 y 5.5 sólo que este cierre estuvo mediado por un efecto dañino sobre las células de cierre. Al usar epidermis sin desprender encontró una disminución del 30 % en la apertura estomatal a una concentración de 10^{-2} M de AAS sin encontrar daño. Además, encontró que la concentración de potasio en la células de cierre fue proporcional a la apertura estomatal. El sugiere estudiar la estructura del AAS al variar el pH, ya que podría ser una explicación del porque a pH ácido la aspirina manifiesta efecto sobre los estomas.

Trejo (1981) en plántulas de Phaseolus vulgaris asperjó ácido salicílico 3×10^{-3} M con glicerol 0.5 % o pilyac 2, encontrando una reducción del 12 % en la transpiración después de 48 horas de tratamiento, esta reducción se vio favorecida a pH menos ácido encontrándose un óptimo a pH 5.5. También se encontró que el AS 3×10^{-3} M con glicerol al 0.5% tiene un efecto similar al que produce el ABA 1.5×10^{-5} M, después de 24 horas de tratamiento.

Andrade (1981) probó una serie de sustancias análogas del AS administradas a través del peciolo en plántulas de frijol. Probó derivados donde se ha bloqueado el grupo funcional hidroxilo, con otro grupo de átomos: ácido acetilsalicílico, ácido benzoilsalicílico, ácido 2,4-dicloro benzoilsalicílico, ácido palmitoil salicílico, ácido β -fenil propionilsalicílico y ácido 2-nitro benzoilsalicílico. Derivados con ambos grupos funcionales (hidroxilo y carboxilo) bloqueados: etil salicilato de metilo, N,N-dietil salicilato

de metilo, benzoil salicilato de metilo y salicina. Derivados con un bloqueo en el grupo carboxilo: salicilaldoxima, acetato del ácido 5-metoxisalicílico, salizalacetona, saligenina. Derivados con uno o más grupos funcionales nuevos: ácido 5-metoxisalicílico y ácido 3,5-dinitrosalicílico. Encontró efecto antitranspirante en AAS, salicilaldoxima, saligenina y ácido palmitoil salicílico a una concentración de 10^{-3} M. Los demás compuestos no tuvieron efecto (los que no tenían el grupo carboxilo ej. salicina) o produjeron fitotoxicidad (sobresalen los que mantienen el grupo funcional ácido o carboxilo). Al usar el AS a 10^{-3} M se encontró toxicidad. La salicilaldoxima y saligenina que muestran ausencia del grupo funcional carboxilo redujeron la transpiración notablemente en un 40 %, en concentraciones de 10^{-4} y 10^{-3} M. Una de las sustancias con mayor efecto fue el APS que redujo la transpiración en 63 % a una concentración de 10^{-3} M a un pH 9.5; en concentraciones más bajas 10^{-6} y 10^{-5} M a pH 4.5 se redujo la transpiración en 25 y 47 % respectivamente. Al variar el pH (3.5 a 8.5) no encontró diferencias entre los tratamientos, excepto con saligenina, la cual aumenta su efecto antitranspirante a pH alcalino (mayor de 7.5).

Por último, sugirió que los substituyentes en posición orto de la molécula de los compuestos probados es fundamental para la acción inhibitoria; el grupo carboxilo libre no es esencial sino por el contrario, resulta dañino a los explantes.

2.7) Penetración.

Durante las últimas décadas ha llegado a ser más evidente la absorción de materiales orgánicos e inorgánicos a través de las superficies de las hojas. Esto, más bien es sorprendente a primera vista, dado que estas superficies están cubiertas por la cutícula, la cual, es una barrera a la penetración de líquidos. Sin embargo, se ha demostrado que no es "impenetrable" (Dybing y Currier 1961); los numerosos reportes sobre aspersión, absorción y filtración foliar lo confirman:

El número de sustancias aplicadas a las hojas ha crecido enormemente, están los reguladores de crecimiento, pesticidas y nutrientes que son usados para propósitos teóricos y prácticos (Sargent y Blackman 1962; Franke 1967).

La penetración de líquidos a través de estomas, ha recibido considerable atención, por ser la vía preferente de penetración en las hojas. Skoss (1955) ha reportado que soluciones acuosas entran rápidamente cuando los estomas están abiertos. Estos últimos establecieron que la penetración se incrementa si se emplea un humectante eficiente.

La penetración estomatal tiene ventajas, por su amplia superficie de adsorción, porque la cutícula interna dentro de la cavidad subestomatal puede ser más delgada y más fácilmente penetrable, además, el riesgo de que se evapore la solución asperjada sobre la superficie es disminuida (Currier et al. 1964 citados por Franke 1967).

La penetración se ve afectada por una serie de factores:

Humedad.- Cuando se eleva la humedad ambiental y hay baja tensión de humedad dentro de la planta se favorece una rápida absorción foliar.

Temperatura.- Se ha encontrado incremento en la penetración cuando la temperatura prevalece entre 25 y 35 °C.

Luz.- Cuando se incrementa hay mayor absorción.

Edad de la hoja.- Hay mayor penetración cuando se utilizan hojas jóvenes que cuando se incrementa la edad de la hoja, tal vez se deba a la diferencia en grosor de la cutícula.

Humectante.- Al agregarlo a soluciones se aumenta la penetración por reducir la tensión superficial. Su concentración varía de acuerdo a la especie que se le asperje; Dybing y Currier (1961) encontraron que las hojas de Phaseolus vulgaris requirieron una concentración más grande (la mínima fue de 0.5 %).

pH.- Se incrementa la penetración cuando hay una disminución del pH (forma no disociada) de la solución aplicada.

La concentración de la sustancia aplicada.- Se ha encontrado que a mayores concentraciones se incrementa la penetración, pero, básicamente va a depender del humectante que se use y de la concentración de éste.

Otros factores que afectan el grado de penetrabilidad de la solución es su tensión superficial y consecuentemente el ángulo de contacto (formado por la solución y la superficie de la hoja). Puesto que, cuando se aplican soluciones acuosas con tensión superficial igual a la del agua pura

(70 dinas/cm) no pasan a través del poro estomatal (Shönherr y Bukovac 1972). Sin embargo, hay penetración cuando ésta se disminuye agregando un humectante o aplicando una presión externa.

Furmidge (1959) describe la fitotoxicidad que pueden ocasionar algunos humectantes; encontró que los no iónicos son los más seguros de usarse puesto que no reaccionan químicamente con la solución.

Foy (1964) encontró que los humectantes pueden "solubilizar" en la cutícula y/o la membrana plasmática dislocando las moléculas lipoides e incrementando la permeabilidad.

Greene y Bukovac (1974) encontraron diferencias en la tensión superficial de la solución acuosa que contenía la misma concentración del compuesto y humectante, pero diferente humectante. También hubo diferencias de tensión superficial al variar la concentración de humectante (de 72 a 28 dinas/cm que corresponde de 0.001 a 1.0 % de humectante respectivamente). Al variar la concentración del compuesto no se encontró diferencia significativa en la penetración. Por otro lado, se observó mayor penetración en estomas abiertos que en cerrados y en la superficie inferior que en la superior de la hoja.

Whitworth y Carter (1969) probaron el efecto de varias concentraciones del polisorbato (humectante no iónico) sobre la absorción del AS por la Rana pipiens. Las concentraciones más bajas del humectante (20 ppm) fueron tan efectivas como las más altas (80 ppm) en el proceso de absorción

del AS, de esta manera concluyen que los humectantes definitivamente influyeron en la absorción, tal vez por la disminución de la tensión superficial.

Varios autores han utilizado humectantes para incrementar o asegurar la penetración estomatal (Dybing y Currier 1961; Sargent y Blackman 1962).

Una sustancia que se puede usar como humectante es el glicerol ya que Hopp y Linder (1946) al agregarlo a un herbicida encontraron la eficacia de éste aún a bajas concentraciones de herbicida. La adición de glicerol fue de 10, 2.5 y 1.0 %, éste último causó poco efecto, pero aún así fue mejor que cuando no se aplicó.

Gray (1956) probó el glicerol y otros agentes humectantes para incrementar la penetración de estreptomina en hojas de frijol, tomate, pimienta y tabaco. Encontró un notable incremento de absorción en tan sólo 3 horas después de asperjarse con glicerol; éste lo probó a 0.5, 1.0 y 2.0 % siendo éste último el más eficaz, sin embargo al aplicar la concentración más baja también se encontró absorción de estreptomina. Los demás humectantes con las mismas propiedades del glicerol (baja volatilidad y propiedades higroscópicas) fueron menos eficaces que el glicerol.

El mecanismo por el cual el glicerol incrementó la eficacia de estreptomina, tal vez se debe a que por su baja volatilidad la solución permanece por más tiempo sobre las hojas o que éste incrementa la permeabilidad de la hoja.

III. OBJETIVO

Basados en experiencias anteriores se planteó:
Estudiar el efecto de aspersiones de salicilaldoxima, saligenina, ácido palmitoil salicílico y ácido salicílico sobre la transpiración de plántulas intactas de frijol (Phaseolus vulgaris L. cv. Cacahuate - 72).

IV. MATERIAL Y METODO

a) Obtención de las plántulas

En la presente investigación se utilizaron plántulas de frijol (Phaseolus vulgaris L. cv. Cacahuate - 72). Las semillas fueron sembradas en vasos de unicel con 300 gramos de suelo esterilizado. Se colocó una semilla en cada vaso y se regaron cada tercer día. Se dejaron crecer las plántulas en el invernadero hasta la edad de 13 a 14 días después de la siembra; median entre 15 y 18 cm de longitud. 24 horas antes del experimento la mitad de las plantas se transfirió a una cámara de crecimiento (Warren Kyson Sherer, CEL 38-15 Plant Growth Chamber) con las siguientes condiciones: temperatura $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, humedad relativa 60 %, fotoperiodo 12 horas; se usaron tubos fluorescentes y lámparas incandescentes de 40W General Electric, los cuales proporcionaron una cantidad de energía radiante de $160\text{ }\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{seg}$.

b) Aplicación y Estimación de tratamientos.

Después de 24 horas de aclimatación, se colocó papel aluminio en la superficie del suelo (para evitar la evaporación) constituyendo así el "sistema básico" de trabajo.

A cada sistema se le estimó el peso inicial y se llevó a un mismo peso agregando el agua necesaria (aproximadamente a capacidad de campo). Enseguida se asperjaron las soluciones directamente en ambas superficies de las hojas; la aplicación se hizo con un aspersor manual hasta que la hoja quedó completamente mojada. Las plántulas se regresaron

a la cámara de crecimiento y al invernadero respectivamente (Fig. 2 y 3). La aspersion se realizó en todos los casos a las 17 horas y cualquier síntoma de fitotoxicidad fue anotado (necrosis).

El diseño experimental fue completamente al azar, con 5 repeticiones por tratamiento.

El consumo de agua fue estimado gravimétricamente con una balanza Sartorius Gm bH. max. (1000 g. \pm 0.01 g.), después de 24 y 48 horas de la aspersion.

A las 48 horas (final del experimento) se determinó el área foliar de cada plántula en un integrador de área foliar Automatic Area Meter Kyokuto Boekikaisha, LTD. Japan Model AAM-5 (Fig. 4). La transpiración fue calculada como sigue:

$$T = \frac{P_i - P_f}{A_f} \quad \text{donde:}$$

T = transpiración (mg cm^{-2} hoja)/24 o 48 horas.
 P_i = peso inicial del sistema
 P_f = peso final del sistema
 A_f = área foliar de la plántula de frijol

c) Preparación de AS y sus análogos

Las sustancias que se probaron fueron las siguientes: ácido salicílico (Baker, S.A. de C.V.), saligenina sintetizada a partir de salicina en el Laboratorio de Fisiología Vegetal; salicilaldoxima y ácido palmitoil salicílico proporcionados por la Div. Est. Sup. F.C. Químicas, UNAM.

El AS se disolvió en agua agitando durante 4 horas (Trejo 1981); la saligenina y la salicilaldoxima se di-

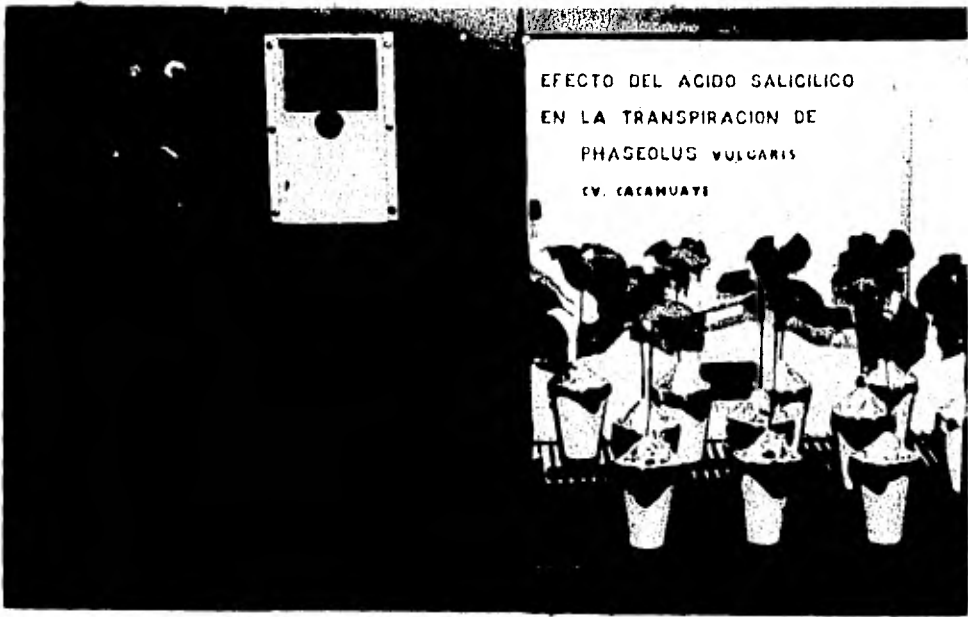


Fig. 2. Experimento bajo condiciones de cámara de crecimiento.



Fig. 3. Experimento bajo condiciones de invernadero.

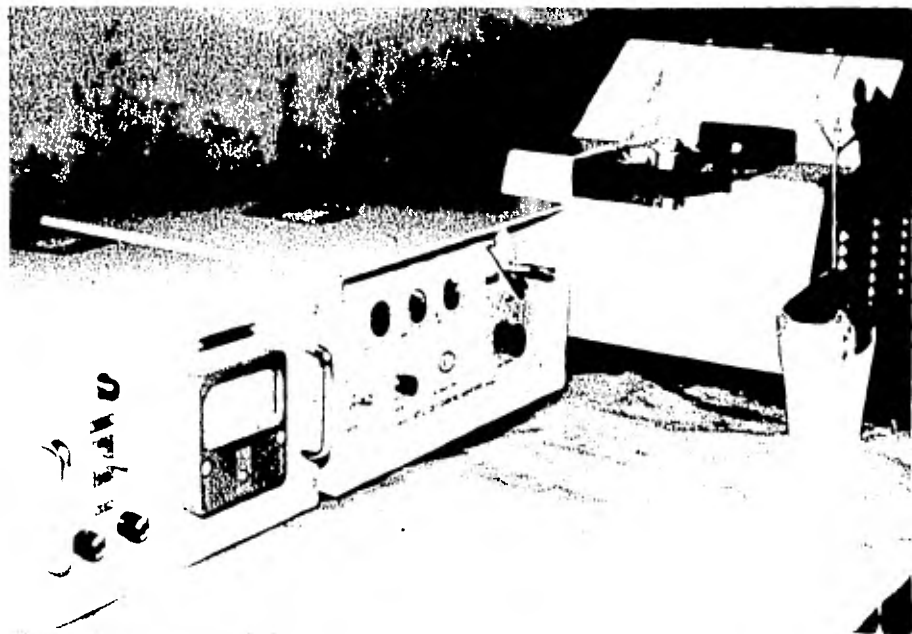
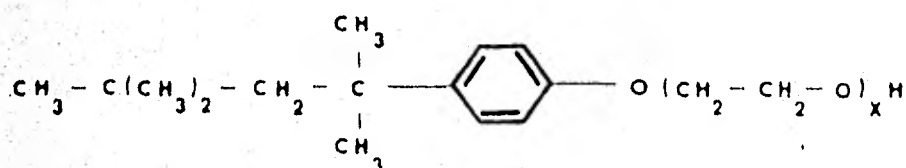


Fig. 4. Integrador de área foliar.

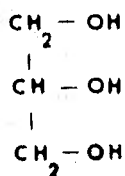
solvieron con metanol (menos del 3 % v/v); el ácido palmitoil salicílico se disolvió con KOH 1 M (menos del 3 % v/v).

Las soluciones una vez disueltas, les fue agregado plyac (0.48 %) o glicerol (0.5 %) con el objeto de favorecer la penetración de los compuestos.

Plyac.- También llamado octilfenoxi polietoxietanol. $C_{34} H_{62} O_{11}$ P.M. 646 $d = 1.0595$ Contiene: a) octil-fenoxi-etanol y A.C. polietileno emulsificable, no menos de 27.5 % en peso (equivalente a 275 g de activadores/lit); b) componentes inertes como mejoradores de la aspersion, no más de 72.5 % en peso. Es un líquido viscoso; miscible con agua, alcohol, acetona; soluble en benceno o tolueno; insoluble en petróleo o éter. Es un extensor adherente no iónico.



Glicerol.- También llamado glicerina o propanotriol. $C_3 H_8 O_3$ P.M. 92.09 $d = 1.25 \text{ g/cm}^3$. Es un líquido de sabor dulce e higroscópico; baja volatilidad; miscible con el agua y alcohol; insoluble en éter.



El pH de las soluciones se estimó en un Potencio metro T O A Electronics. LTD. Japan modelo HM-5B. El pH deseado se logró agregando KOH 1 M o HCl 2 N según fuera el caso. El AS se ajustó a pH 6.0, el APS a pH 7.0, la saligenina a pH 6.6 y salicilaldoxima a pH 6.5.

d) Experimentos llevados a cabo para analizar su efecto antitranspirante.

I) Curva dosis-respuesta de AS (10^{-5} a 10^{-3} M) + plyac o glicerol.

II) Curva dosis-respuesta de AS (2×10^{-3} a 8×10^{-3} M) + plyac o glicerol.

III) Efecto de AS y sus análogos (3×10^{-3} M) + plyac o glicerol.

IV) Efecto de saligenina (10^{-4} y 10^{-3} M) + plyac o glicerol.

V) Curva dosis-respuesta de salicilaldoxima (10^{-5} a 10^{-2} M) + glicerol.

VI) Curva dosis-respuesta de APS (10^{-5} a 10^{-3} M) + glicerol.

V. RESULTADOS

I) Efecto de aspersiones de AS (10^{-5} a 10^{-3} M) + plyac o glicerol sobre transpiración.

Este experimento se llevó a cabo en cámara de crecimiento. Las diferentes concentraciones de AS con plyac o glicerol fueron asperjadas como se indicó. Los resultados obtenidos después de 24 horas se muestran en la figura 5 (cuadro 1 del apéndice). Se puede observar que el AS aplicado a concentración 10^{-3} M + glicerol redujo la transpiración hasta en un 11 % del control. Las restantes concentraciones no mostraron efectos importantes.

II) Efecto de aspersiones de AS (2×10^{-3} a 8×10^{-3} M) + plyac o glicerol sobre transpiración.

Este experimento se llevó a cabo en cámara de crecimiento y en invernadero. Los resultados obtenidos después de 24 horas se muestran en la figura 6 (cuadro 2 y 3 del apéndice). Se puede observar que bajo cualquier condición se redujo la transpiración, y con mayor proporción utilizando glicerol como humectante.

En la cámara de crecimiento fue posible encontrar reducción de transpiración de un 6 a 32 % del control a concentraciones 2×10^{-3} a 8×10^{-3} M + glicerol. Sin embargo, este efecto estuvo acompañado por fitotoxicidad, excepto a la concentración 2×10^{-3} M. Cuando se aplicó AS con plyac se redujo la transpiración en un 12 % del control a una concentración de 8×10^{-3} M. Sin embargo, este efecto estuvo acompañado por fitotoxicidad. Las restantes concentraciones (2, 4 y 6×10^{-3} M) redujeron transpiración de 3-11 %, este efecto estu

vo libre de cualquier síntoma fitotóxico.

Bajo condiciones de invernadero, el experimento se hizo sólo con AS + glicerol. Se obtuvo una reducción de transpiración de 10 a 32 % del control a las concentraciones 2×10^{-3} a 8×10^{-3} M. Sin embargo, este efecto estuvo acompañado por fitotoxicidad, excepto a la concentración de 2×10^{-3} M.

III) Efecto de aspersiones de AS y sus análogos (3×10^{-3} M) sobre transpiración.

En ensayos preliminares se probó esta concentración (3×10^{-3} M) de AS obteniéndose resultados satisfactorios en la reducción de la transpiración.

Este experimento se llevó a cabo en cámara de crecimiento y en invernadero. Las diferentes sustancias (saligenina, salicilaldoxima, ácido palmítico salicílico y ácido salicílico) fueron asperjadas con plynac o glicerol como ya se indicó. Los resultados obtenidos después de 24 horas se muestran en la figura 7 (cuadro 4 y 5 del apéndice).

Se observa que bajo condiciones de cámara de crecimiento salicilaldoxima, APS y AS redujeron la transpiración, mientras que saligenina la incrementó. Sin embargo, el único que redujo la transpiración drásticamente (como era de esperarse) fue el AS en un 14 % del control. Las restantes sustancias redujeron la transpiración ligeramente (no mayor de 6 %). La saligenina en cambio incrementó la transpiración un 8 % sobre el control.

En condiciones de invernadero, hubo reducción de la transpiración con todas las sustancias probadas. Sin embargo, el AS la redujo drásticamente hasta en un 12 % del

control; mientras que el APS lo hizo en un porcentaje no mayor del 4 %. La respuesta encontrada con los restantes análogos es contradictoria, ya que promueven (hasta 8 %) ó inhiben (3 %) la transpiración dependiendo del humectante.

IV) Efecto de aspersiones de saligenina (10^{-4} y 10^{-3} M) sobre la transpiración.

Este experimento se llevo a cabo en cámara de crecimiento y en invernadero. Las soluciones de las diferentes concentraciones se aplicaron con plyac o glicerol. Los resultados obtenidos después de 24 horas se muestran en la figura 8 (cuadro 6 y 7 del apéndice). Se observa que en condiciones de cámara de crecimiento hubo incremento de la transpiración de menor a mayor concentración de un 4 hasta 6 % sobre el control. Es notorio que el humectante plyac favorece en menor proporción dicho incremento de la transpiración.

En condiciones de invernadero los resultados de los diferentes tratamientos no mostraron efectos importantes.

V) Efecto de aspersiones de salicilaldoxima (10^{-5} a 10^{-2} M) sobre transpiración.

Este experimento se llevó a cabo en cámara de crecimiento y en invernadero. Las diferentes concentraciones de salicilaldoxima con glicerol fueron asperjadas como se indicó. Los resultados obtenidos después de 24 horas se muestran en la figura 9 (cuadro 8 y 9 del apéndice). Se puede observar que bajo cualquier condición se redujo la transpiración. En la cámara de crecimiento fué posible llevar dicha reducción hasta un 17 % del control a una concentración

de 10^{-2} M. Sin embargo, este efecto estuvo acompañado por fitotoxicidad. Las restantes concentraciones redujeron la transpiración ligeramente (no mayor de 5 %) sin causar toxicidad.

En condiciones de invernadero hubo reducción de la transpiración de hasta 17 % del control a una concentración de 10^{-2} M, en esta ocasión no hubo síntomas fitotóxicos. Las restantes concentraciones redujeron ligeramente la transpiración (3-7 %) sin causar fitotoxicidad.

VI) Efecto de aspersiones de ácido palmitoil salicílico (10^{-5} a 10^{-3} M) sobre transpiración.

Este experimento se llevó a cabo en cámara de crecimiento y en invernadero. Las diferentes concentraciones fueron asperjadas con glicerol. Los resultados obtenidos después de 24 horas se muestran en la figura 10 (cuadro 10 y 11 del apéndice).

Se observa que bajo condiciones de cámara de crecimiento hubo reducción de un 5 % del control a una concentración de 10^{-3} M. Las restantes concentraciones no mostraron efectos importantes.

En condiciones de invernadero se redujo la transpiración ligeramente (3-4 %) a concentraciones de 10^{-5} y 10^{-3} M. El tratamiento de 10^{-4} M no mostró efecto importante.

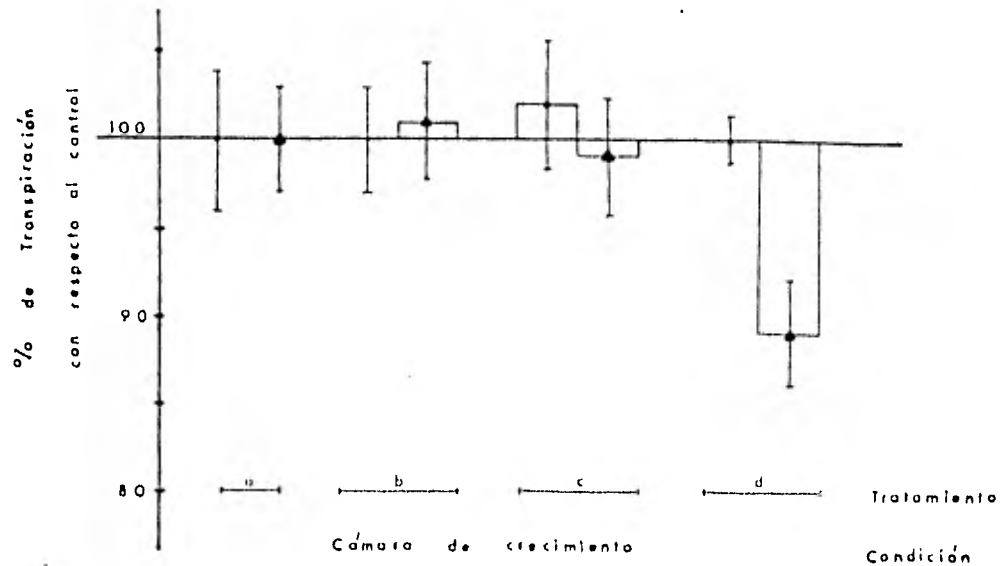


Fig. 5. Efecto de aspersiones de ácido salicílico (AS) sobre transpiración. (.) plyac (•) glicerol a) Control, b) AS 10^{-5} M, c) AS 10^{-4} M y d) AS 10^{-3} M. Cada punto es la media de 5 repeticiones \pm error estándar.

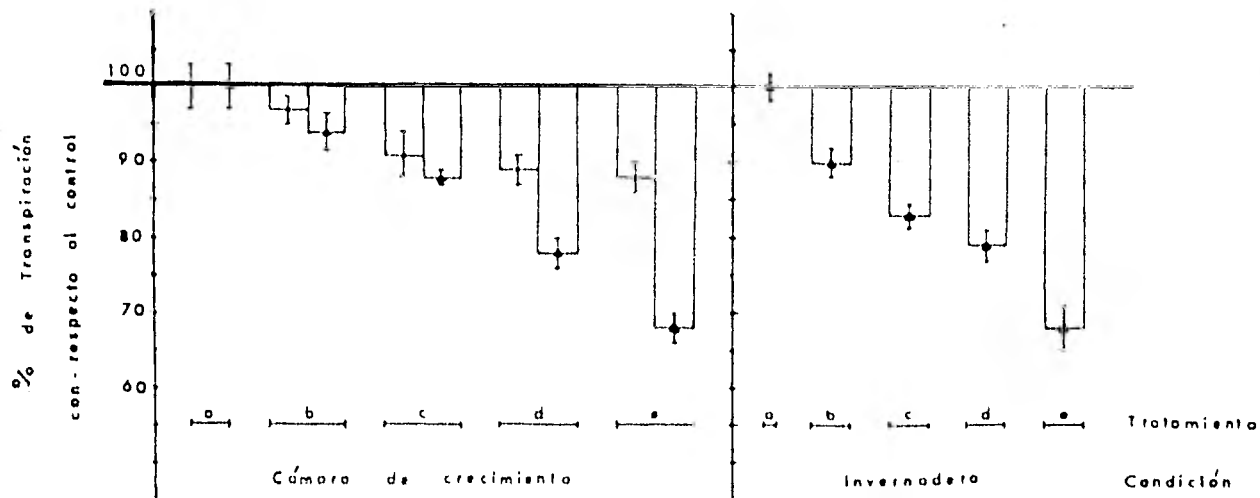


Fig. 6. Efecto de aspersiones de ácido salicílico (AS) sobre transpiración. (.) pinyac (▲) glicerol a) Control, b) AS 2×10^{-3} M, c) AS 4×10^{-3} M, d) AS 6×10^{-3} M y e) AS 8×10^{-3} M. Cada punto es la media de 5 repeticiones \pm error estandar.

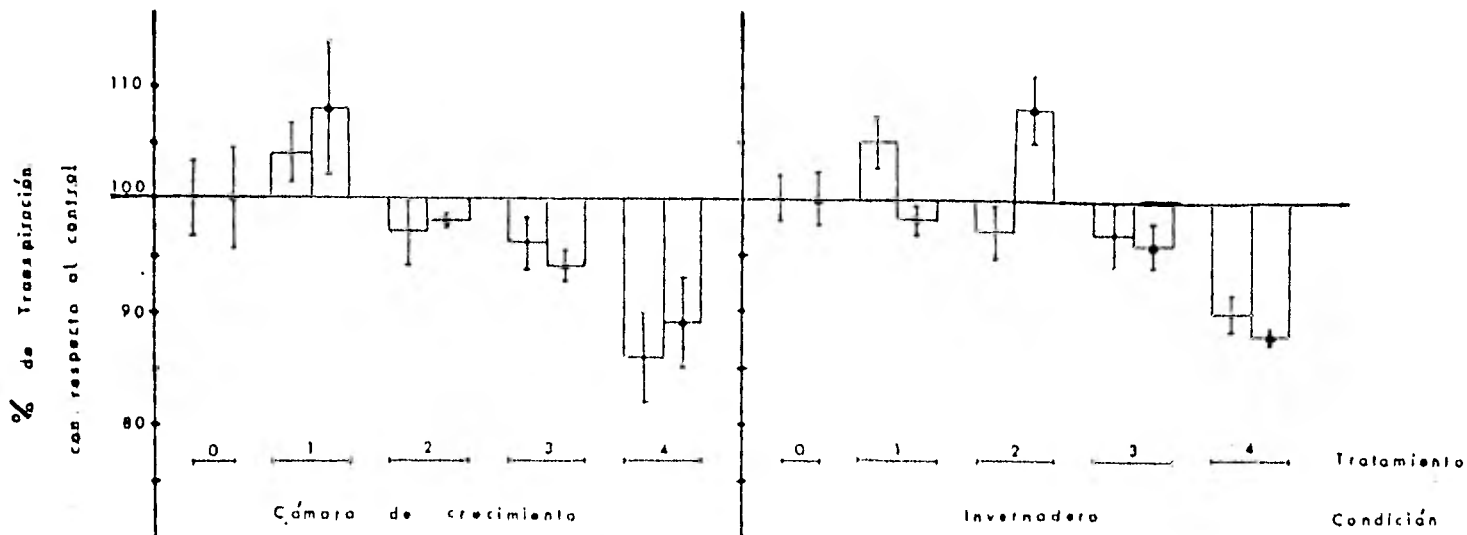


Fig. 7. Efecto de aspersiones de ácido salicílico y sus análogos ($3 \times 10^{-3} M$) sobre transpiración. (.) ptyac (▲) glicerol 0) Control, 1) saligenina, 2) salicilaldoxima, 3) ácido palmítico salicílico y 4) ácido salicílico. Cada punto es la media de 5 repeticiones \pm error estándar.

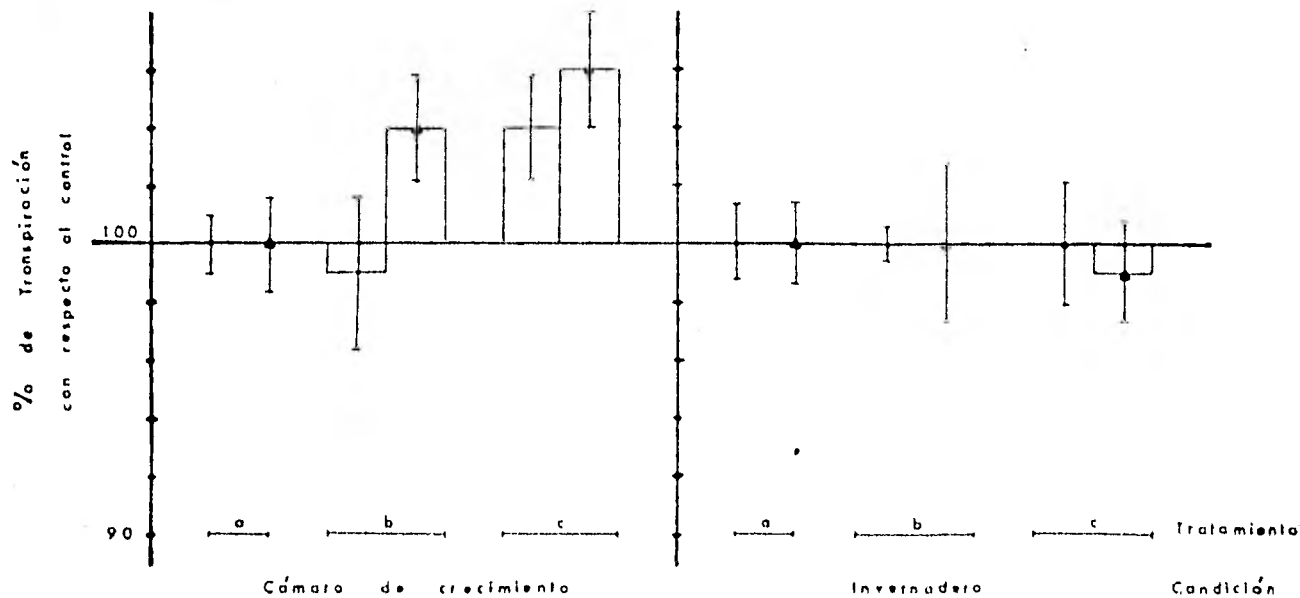


Fig. 8. Efecto de aspersiones de saligenina sobre transpiración.
 (.) polyac (Δ) glicerol a) Control, b) 10⁻⁴M y c) 10⁻³M.
 Cada punto es la media de 5 repeticiones ± error estándar.

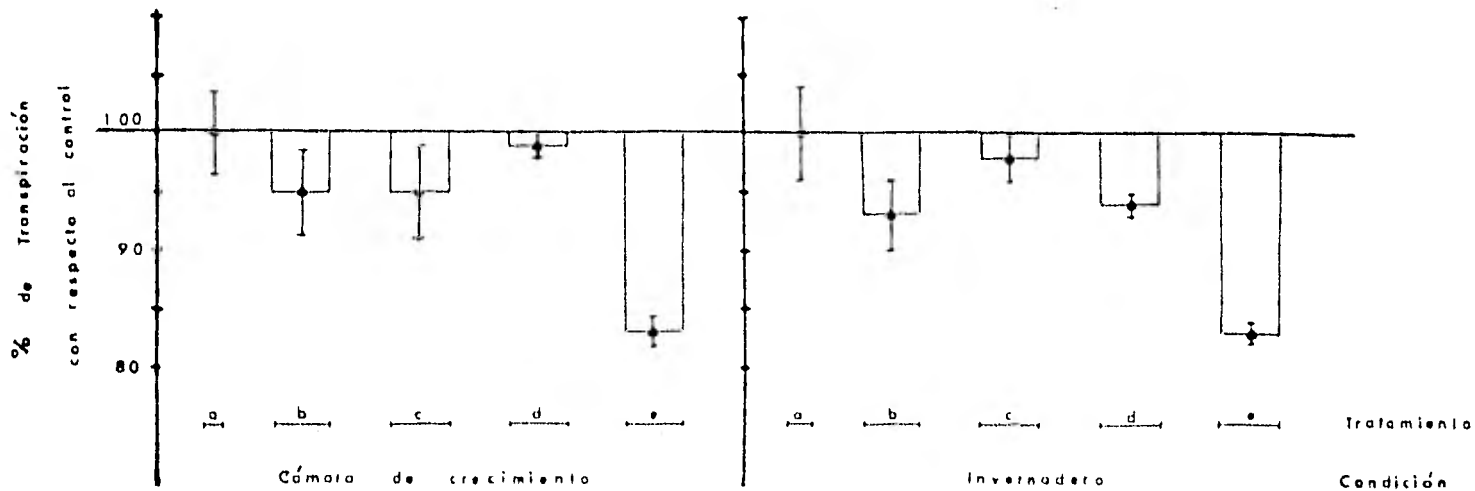


Fig. 9. Efecto de aspersiones de salicilaldoxima + glicerol sobre transpiración. a)Control, b) 10^{-5} M, c) 10^{-4} M, d) 10^{-3} M y e) 10^{-2} M. Cada punto es la media de 5 repeticiones \pm error estandar.

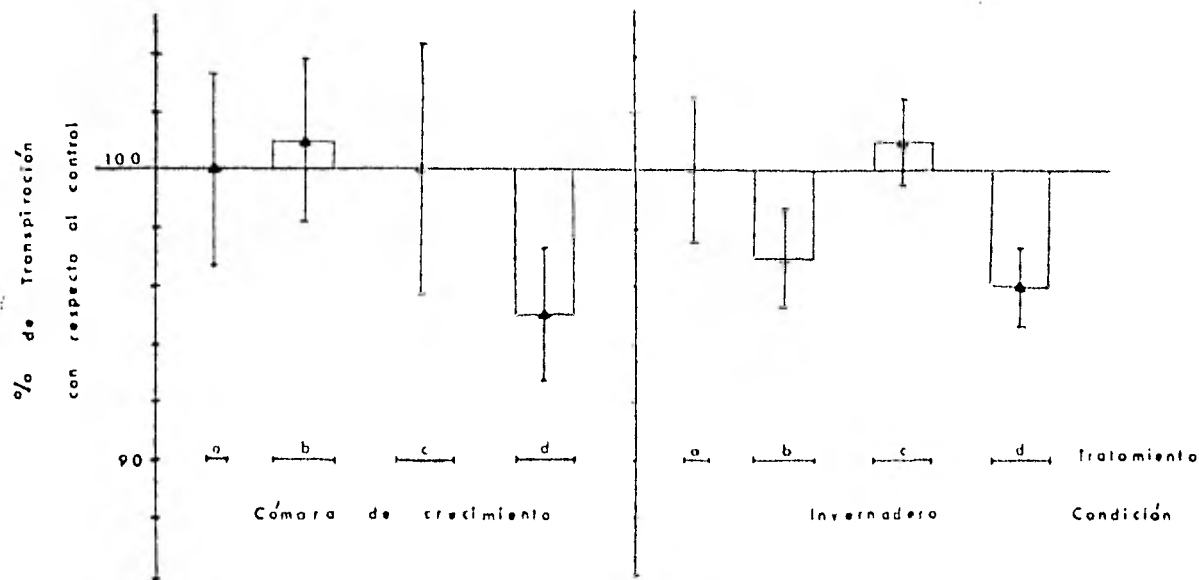


Fig. 10. Efecto de aspersiones de ácido palmítico salicílico (APS) + glicerol sobre transpiración. a) Control, b) 10^{-5} M, c) 10^{-4} M y d) 10^{-3} M. Cada punto es la media de 5 repeticiones \pm error estándar.

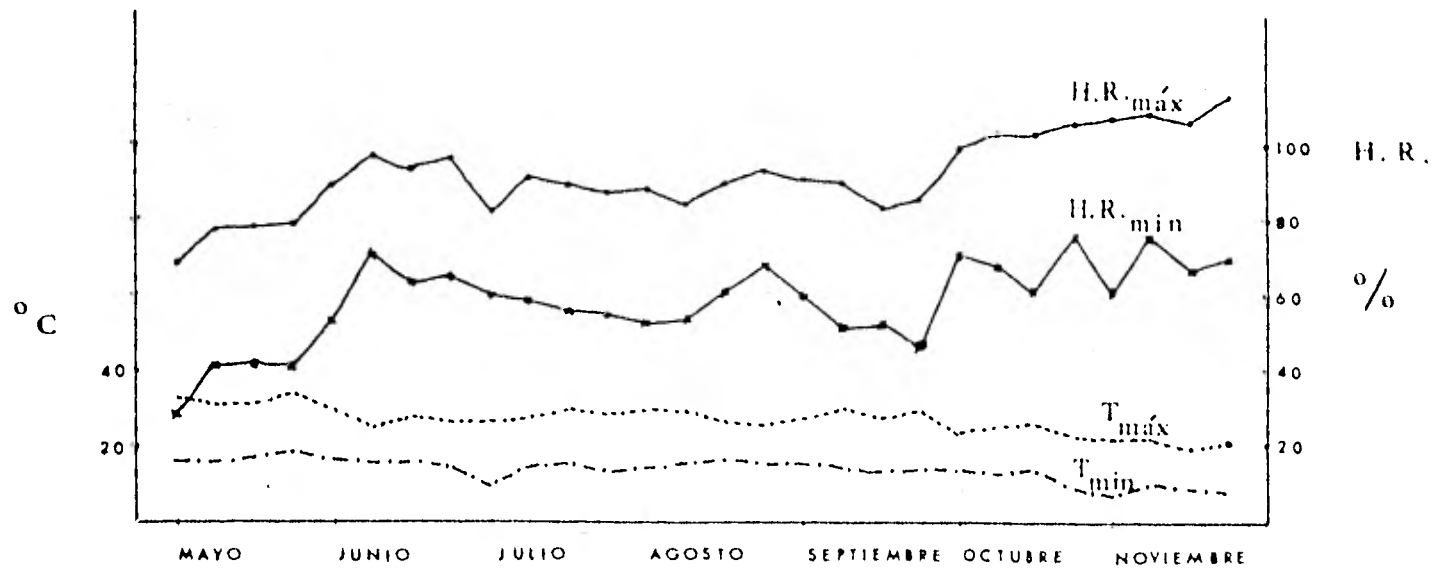


Fig. 11. Condiciones ambientales que prevalecieron durante la investigación.

VI. DISCUSION

El efecto del AS sobre la transpiración se confirmó, ya que en los experimentos I a III se observa reducción de la transpiración hasta en un 14 % respecto al control sin que las plántulas mostraran síntomas fitotóxicos. Esta reducción fue causada por la aplicación de soluciones de AS 10^{-3} y 3×10^{-3} M más glicerol y 6×10^{-3} y 3×10^{-3} M más plyac bajo condiciones de cámara de crecimiento. Se hace énfasis con que humectante se trabajó puesto que se observa que el glicerol es el más efectivo ya que en soluciones donde la concentración de AS es 10^{-3} M reduce 11 % la transpiración respecto al control, esta misma reducción la hay en una solución 3×10^{-3} M pero con persistencia hasta las 48 horas, pero no con la misma intensidad que a las 24 horas (9 %). No obstante, al usar el plyac como humectante se requiere de mayor concentración de AS para obtener el mismo efecto, ésto es, 3×10^{-3} M reduce 14 % y 6×10^{-3} M reduce el 11 %, en ambas sin persistir el efecto a las 48 horas.

El hecho por el cual el glicerol incrementa la eficacia de AS puede estar correlacionado con un incremento en absorción de ésta sustancia por las hojas, esto tal vez sea debido a su efecto higroscópico y su baja volatilidad, lo que hace que la solución permanezca por más tiempo sobre las hojas o incremente su permeabilidad (Gray 1956).

La aplicación de concentraciones más altas de AS (4×10^{-3} a 8×10^{-3} M) usando plyac o glicerol redujo la transpiración de 9 a 32 % con respecto al control, en las primeras 24 horas. A las 48 horas el efecto se pierde, comportán-

dose la pérdida de agua igual o ligeramente más alta que el control. Esta reducción de pérdida de agua fue más notoria cuando se aplicó glicerol que plyac. No obstante, este efecto estuvo acompañado por fitotoxicidad (necrosis en los bordes de las hojas). Se ha pensado que tal vez se deba a un cambio en concentración de la solución aplicada, ésto es, las gotas permanecen sobre las hojas hasta que se secan y en ciertas partes (como bordes) es donde las gotas permanecen por más tiempo (Sargent y Blackman 1962).

El efecto del AS bajo condiciones de invernadero fue similar a los resultados obtenidos en cámara de crecimiento. Cuando se aplicaron soluciones de AS 10^{-3} , 2×10^{-3} y 3×10^{-3} M más glicerol, en promedio se redujo la transpiración en un 11 % sin provocar necrosis sobre las hojas. En concentraciones más altas de 4×10^{-3} a 8×10^{-3} M también se redujo la transpiración de 17 a 32 % en las primeras 24 horas pero acompañado de toxicidad. A las 48 horas se pierde el efecto antitranspirante y se hace más notorio el daño por las aspersiones de AS. El único efecto notorio bajo estas condiciones al usar plyac, fue la reducción de la transpiración (10 %) al usar la solución de AS 3×10^{-3} M.

El efecto de saligenina sobre la transpiración dio resultados contrarios a lo esperado y a lo reportado por Andrade (1981). En soluciones 3×10^{-3} , 10^{-3} y 10^{-4} M se incrementó la transpiración en un 8, 6 y 4 % respectivamente; al usar saligenina más plyac a estas concentraciones el efecto se vio afectado de la misma forma pero éste fue menos so-

bresaliente que al usar el glicerol.

Se esperaba que la saligenina disminuyera la transpiración al igual que lo hace el AS. Andrade (1981) en contró que en concentraciones de 10^{-3} M de saligenina se reduce la transpiración de explantes de frijol en un 40 %. Ade más, Larque-Saavedra (datos no publicados) observó el efecto de los exudados de Salix sobre la velocidad de transpiración en explantes de frijol, ésta se redujo en 41 % respecto al control. Ballesteros (1982) también demostró reducción de transpiración (41 %) por exudados de Salix. Como se menciona en los antecedentes Salix contiene salicilatos que tal vez puedan estar afectando éste proceso fisiológico. Gesto et al. 1977 al usar extractos de Salix observaron una promoción del enraizamiento de frijol, al analizar el extracto se encontró saligenina. Por ésta última aseveración puede ser que la saligenina en este tipo de bioensayo (aspersiones de saligenina sobre plantas intactas de frijol) actúe como un promotor en la transpiración o en su defecto el observar que soluciones concentradas incrementa la transpiración y en con centraciones más diluídas (10^{-4} M) es nula o muy baja, se puede pensar que tal vez con soluciones más diluídas (10^{-5} a 10^{-8} M) el efecto sea lo inverso.

El efecto de APS sobre la transpiración no fue muy notorio. Sin embargo, hay la tendencia a reducirla (no mayor del 6 % con respecto al control) mientras más concentrada esté la solución 3×10^{-3} M. Esto hace pensar que tal vez soluciones más concentradas arriba de ésta última tengan un efecto drástico sobre la transpiración. Pero hay un in-

conveniente para probar concentraciones más elevadas ya que su solubilidad en agua es baja. La parcial solubilización se obtiene alcalinizando el medio, con la formación de la sal del APS. No obstante, el comportamiento anfipático de éstas moléculas no tiende a formar soluciones verdaderas, sino grupos dispersos llamados micelas, los cuales se dispersan independientemente en el medio acuoso (Morrison 1976).

Por otra parte, la molécula del APS es casi 3 veces mayor que la molécula del AS lo que hace pensar que tal vez el APS necesita de mayor concentración de humectante para penetrar en las hojas. Dybing y Currier (1961) proponen que la penetración va a depender básicamente del humectante que se use, de la concentración de éste y de la especie en cuestión. Por consiguiente, Hopp y Linder (1946) demostraron que al agregar glicerol en 10, 2.5 y 1 % a soluciones con bajas concentraciones de un herbicida, se observó mayor eficacia cuando el glicerol se aplicó al 10 %, no obstante, el glicerol al 1 % causó un efecto menos eficaz pero aún mejor que cuando no se aplicó humectante al herbicida.

El efecto de salicilaldoxima sobre la transpiración fue notoria cuando se usó una solución concentrada ($10^{-2}M$) la cual redujo la pérdida de agua hasta un 17 % respecto al control en las primeras 24 horas. Sin embargo, bajo condiciones de cámara de crecimiento, este efecto estuvo acompañado por fitotoxicidad y no persistió dicha reducción hasta las 48 horas. Inversamente, en condiciones de invernadero no se encontró toxicidad y además el efecto persistió a las 48 horas (datos no graficados) con un 9 % de reducción.

De un breve examen comparativo, entre las condiciones ambientales que prevalecieron en la cámara de crecimiento y en el invernadero, se puede pensar que hay una interacción con respecto a temperatura y humedad relativa la cual ocasione que la penetración se vea afectada. El tener la cámara de crecimiento a una temperatura de 25 °C y humedad relativa del 60 % después de la aspersión (de las 17 a las 20 horas), en comparación con las condiciones de invernadero, la temperatura osciló entre 22 y 15 °C y la humedad relativa del 66 a 80 %; esto sugiere que la alta humedad que prevaleció en el invernadero disminuyó su absorción foliar de la sustancia asperjada, mientras que en más baja humedad 60 % en cámara de crecimiento puede ser que la velocidad de absorción sea más rápida (Greene y Bukovac 1971); esto conduce a pensar que en cámara de crecimiento la solución asperjada sobre las hojas permaneció por menos tiempo y puede ser que en ciertas partes de las hojas (como son bordes) haya habido mayor absorción, puesto que ahí se acumula mayor cantidad de la solución asperjada lo cual se pudo causar un cambio en la concentración de la solución aplicada y así provocar el daño fitotóxico en el tratamiento.

Esta actividad antitranspirante de salicilaldoxima se confirma por el estudio hecho por Raghavendra y Das 1977 quienes observaron reducción de transpiración durante 12 días en Datura arborea.

En la presente investigación los resultados de los tratamientos no fueron tan notorios en comparación con los resultados obtenidos por Andrade (1981). Esto hace supo

ner que los resultados pueden estar variando en mayor o menor proporción dependiendo del bioensayo utilizado.

Con el tipo de bioensayo que se utilizó en la presente investigación (plantas completas) se enfrenta a uno de los mayores problemas que es la penetración foliar. A pesar de todos los trabajos que se han llevado a cabo para dilucidar la penetración foliar, sigue siendo un problema sin resolver. Sin embargo, se ha demostrado que los factores que intervienen en la penetración, son específicos para cada sistema empleado, considerando el tipo de planta, las propiedades de la solución que se va a asperjar (tensión superficial, pH, tamaño de la gota, actividad biológica que pueda influir en la respuesta estomatal, modo de aplicación, etc.) y factores ambientales (temperatura, luz, humedad, etc.) Greene y Bukovac (1974). De esta manera podemos suponer que el efecto obtenido por los tratamientos aplicados se debe en sí a la interacción de todos los factores que determinan la penetración foliar.

Las sustancias probadas no tuvieron un efecto persistente por varios días. Esto sugiere tal vez que la planta tenga la aptitud de metabolizar la sustancia rápidamente o que estas sustancias interaccionen con otros compuestos dentro de la célula, sugiriendo así la pérdida del efecto del tratamiento sobre la transpiración Addicott y Lyon (1969) sugieren que así sucede con el ABA.

El mecanismo de acción del AS y sus análogos sobre la transpiración resulta difícil tratar de explicarlo. Sin embargo, Larqué-Saavedra (1978) propone que el AAS incre

menta los niveles internos de CO_2 de la hoja lo cual provocaría la salida de potasio de las células de cierre y el correspondiente cierre estomatal. La acumulación de los salicilatos en las células estimula la salida de potasio (Hoeberichts et al. 1980) apoyando de esta forma lo discutido por Larqué-Saavedra.

Otro mecanismo de acción de los salicilatos puede ser por la alteración de la permeabilidad de la membrana (Barker y Levitan 1971; Berestetsku et al. 1978; García 1979).

Su mecanismo de acción en el movimiento estomatal puede ser en forma indirecta tal vez estimulando la liberación de ABA almacenado en los cloroplastos, tal como sucede con el transfarnesol que es capaz de influir en esta liberación de ABA (Wilson y Davies 1979).

Por otro lado, las características en común que presentan los compuestos utilizados en esta investigación tales como sus radicales hidroxilos y carboxilos pueden tener una función determinante en la penetración; Overton (citado por Collander 1959) encontró que la introducción de ciertos radicales tales como hidroxilo, carboxilo o el grupo amonio en una molécula penetrante, disminuye en gran medida su poder de penetración. Inverso a ésto una prolongación de la cadena de carbono o una esterificación de sus grupos carboxilos o hidroxilos mejora o aumenta el poder de penetración de una molécula. Esto sugiere probar análogos del AS con grupos éster como salicilato de sodio, metilo, fenilo, amilo, etc., ésto se apoya por lo mencionado anteriormente de que el AS se encuentra endógenamente en las plantas en forma de

ésteres; o por los efectos encontrados por Jones y Mansfield (1972) en donde prueban el efecto de los ésteres fenil y metil del ABA que mejoran o igualan su actividad antitranspirante con respecto al ABA. Este planteamiento podría ser una forma más directa que nos pudiera dar más perspectivas en el papel fisiológico que tiene este grupo llamado salicilatos.

VII. CONCLUSIONES

La reducción de la transpiración debida al AS en concentración $3 \times 10^{-3} \text{M}$ se comprobó bajo cualquier condición ambiental.

La saligenina tiene la tendencia a incrementar la transpiración conforme se incrementa su concentración.

La salicilaldoxima en concentración de 10^{-2}M reduce la transpiración de frijol en un 17 % sin daño aparente de las plantas bajo condiciones de invernadero.

El APS tiene la tendencia a reducir la transpiración. Sin embargo, con las concentraciones probadas no hubo un efecto drástico.

El glicerol usado como humectante favoreció más la penetración de los compuestos que el plyac. Se sugiere probar concentraciones más altas de glicerol puesto que tal vez favorezcan en mayor grado la penetración.

La morfología de la planta, las propiedades de la solución y los factores ambientales intervinieron en la penetración foliar de los compuestos probados (AS y análogos).

B I B L I O G R A F I A

- Ackerson, R.C. 1980. Stomatal response of cotton to water stress and abscisic acid as affected by water stress history. *Plant Physiol.* 65: 455-459.
- Addicott, F.T. y Lyon, J.L. 1969. Physiology of abscisic acid and related substances. *Ann Rev Plant Physiol.* 20: 139-164.
- Ahmed, H.S. y Sawhney, J.S. 1977. Endogenous growth substances and sugar levels in wheat grains during germination. *Libyan J. Agr.* 6: 85-89.
- Allaway, W.G. y Mansfield, T.A. 1970. Experiments and observations on the after-effects of wilting on stomata of Rumex sanguineus. *Can J Bot.* 48: 513-521.
- Allaway, W.G., 1973. Accumulation of malate in guard cells of Vicia faba during stomatal opening. *Planta.* 110: 63-70.
- Andrade T., J.L. 1981. Resistencia a la sequía II: Efecto de análogos del ácido salicílico sobre la transpiración de explantes de Phaseolus vulgaris L. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala-UNAM. Edo. de México.
- Ballesteros L., J.J. 1982. Resistencia a la sequía III: Efecto de exudados de raíz de diferentes especies en la transpiración de Phaseolus vulgaris L. Tesis de Licenciatura. Fac. Ciencias UNAM. México.
- Barker, L.J. y Levitan, H. 1971. Salicylate: Effect on membrane permeability of Molluscan Neurons. *Science* 172: 1245-1247.
- Basu, R.N. 1972. Effect of non-auxin chemicals on translocation of auxin in cuttings of Phaseolus vulgaris L. *J. Exp. Bot.* 23: 357-365.

- Berestetskü, O.A.; Elisashvili, T.A. y Borovkov, A.V. 1978. Formation of phytotoxic 6-methylsalicylic acid by some soil microorganisms and its effect on plants. S-KH Biol. 13: 868-871.
- Bowling, D.J.F. 1976. Malate-switch hypothesis to explain the action of stomata. Nature. 262: 393-394.
- Chou, C-H. y Patrick, Z.A. 1976. Identification and phytotoxic activity of compounds produced during decomposition of corn and rye residues in soil. J. Chem. Ecol. 2: 369-387.
- Cleland, Ch.F. y Ajami, A. 1974. Identification of the flower-inducing factor isolated from aphid honeydew as being salicylic acid. Plant Physiol. 54: 904-906.
- Clements, H.F. 1934. Significance of transpiration. Plant Physiol. 9: 165-172.
- Collander, Z. 1959. Cell membrane: Their resistances to penetration are they in capacity for transport. In: Plant Physiology, A treatise, Steward, F.C. Vol. II: 3-102.
- Collier, H.D.J. 1963. Aspirin. Scientific Am. 209: 97-108.
- Coudret, A. y Ferron, F. 1977. La transpiration végétale. Modes d'action des antitranspirants. Ann Amelior. Plantes. 27: 613-638.
- Curtis, O.F. 1926. What is the significance of transpiration? Science. 63: 267-271.
- Cutter, E.G. 1978. Plant Anatomy. Part I: Cells and Tissues. 2a. Edward Arhold.
- Datta, K.S. y Nanda, K.K. 1978. Effect of some phenols and gibberellic acid on the growth and development of "T22" triticale. Indian J. Agr. Sci. 48: 89-93.

- Davenport, D.C.; Hagan, R.M. y Martin, P.E. 1969. Antitranspirants. ... uses and effects on plant life. California Agriculture 23: 14-16.
- Davenport, D.C.; Fisher, M.A. y Hagan, R.M. 1972. Some counteractive effects of antitranspirants. Plant Physiol. 49: 722-724.
- Davies, W.J. y Mansfield, T.A. 1978. Strategies employed by plants to conserve water: Can we improved on them? Proceedings Joint BCPC and BPGRG Symposium-"Opportunities for chemical plant growth regulation". 45-54.
- De León G., F. 1979. Efecto del ácido acetilsalicílico (aspirina) sobre algunos aspectos de la fisiología estomatal de Commelina communis L. Tesis de Maestría en Ciencias. C.P. Chapingo, México.
- Díaz M., F. 1974. Estudio preliminar sobre algunos componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento en 4 variedades de frijol (Phaseolus vulgaris L.) Tesis de Maestría en Ciencias. C.P. Chapingo, México.
- Dittrich, P. y Raschke, K. 1977. Malate metabolism in isolated epidermis of Commelina communis L. in relation to stomatal functioning. Planta. 134: 77-81.
- Dybing, C.D. y Currier, H.B. 1961. Foliar penetration by chemicals. Plant Physiol. 36: 169-174.
- Fenton, R.; Davies, W.J. y Mansfield, T.A. 1977. The role of farnesol as a regulator of stomatal opening in Sorghum. J. Exp. Bot. 28: 1043-1053.
- Fisher, R.A. 1968. Stomatal opening: Role of potassium uptake by guard cell. Science. 160: 784-785.
- Fisher, R.A. y Hsiao, T.C. 1968. Stomatal opening in isolated epidermal strips of Vicia faba. II. Responses to KCl concentration and the role of potassium absorption. Plant Physiol. 43: 1953-1958.

- Fisher, R.A. 1971. Role of potassium in stomatal opening in the leaf of Vicia faba. *Plant Physiol.* 47:555-558.
- Flores, H. y Chin, C-K. 1980. The effects of KCN and salicyl hydroxamic acid on the respiration and growth of excised tomato roots. *Plant Science Letters* 17: 237-243.
- Foy, Ch. L. 1964. Foliar penetration. Review of herbicide penetration through plant surfaces. *Agricultural and Food Chemistry.* 12: 473-476.
- Franke, W. 1967. Mechanisms of foliar penetration of solutions. *Ann Rev Plant Physiol.* 18: 281-300.
- Fujino, M. 1967. Role of adenosine triphosphate and adenosine triphosphatase in stomatal movement. *Sci. Bull. Fac. Nagasaki Univ.* 18: 1-47.
- Furmidge, C.G.L. 1959. Physico-chemical studies on agricultural sprays. III. Variation of phytotoxicity with the chemical structure of surface-active agents. *J. Sci. Food Agric.* 10: 419-425.
- Gale, J. y Hagan, R.M. 1966. Plant antitranspirants. *Ann Rev Plant Physiol.* 17: 269-282.
- García P., R.E. 1979. El ácido acetilsalicílico (aspirina) y el ácido salicílico en la maduración fisiológica del fruto del jitomate Lycopersicum esculentum Mill. cv. Royal Ace. Tesis de Maestría. Chapingo, México.
- García E., T.M.A. 1982. Reguladores de Crecimiento II. Efecto de aspersiones de ácido acético salicílico sobre producción de grano en trigo (Triticum aestivum L. cv. Lerma Rojo). Tesis de Licenciatura. Fac. Ciencias UNAM, México.
- Gates, D.M. 1964. Leaf temperature and transpiration. *Agron. J.* 56: 273-277.

- Gesto, M.D.; Vazquez, A. y Vieitez, . 1977. Rooting substances in water extracts of Castanea sativa y Salix viminalis. *Physiol. Plant.* 40: 265-268.
- Glass, A.D.M. 1974. Influence of phenolic acids upon ion uptake. III. Inhibition of potassium absorption. *J. Exp. Bot.* 25: 1104-1113.
- Glinka, Z. y Reinhold, L. 1971. Abscisic acid raises the permeability of plant cells to water. *Plant Physiol.* 48: 103-105.
- Golbeck, J.H. 1980. Action of salicylaldehyde on electron transport reactions, fluorescence yield and light-induced field changes in spinach chloroplasts. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 202: 458-466.
- Gray, R.A. 1956. Increasing the absorption of streptomycin by leaves and flowers with glycerol. *Phytopathology.* 46: 105-111.
- Greene, D.W. y Bukovac, M.J. 1971. Factors influencing the penetration of naphthaleneacetamide into leaves of pear Pyrus communis L. *J Am Soc Hort Sci.* 96: 240-246.
- Greene, D.W. y Bukovac, M.J. 1974. Stomatal penetration: Effect of surfactants and role in foliar absorption. *Am J Bot.* 61: 100-106.
- Gustafson, F.G. 1956. Comparative absorption of cobalt-60 by upper and lower epidermis of leaves. *Plant Physiol.* 141-142.
- Harper, J.R. y Balke, N.E. 1981. Characterization of the inhibition of K^+ absorption in oat roots by salicylic acid. *Plant Physiol.* 68: 1349-1353.
- Heath, O.V.S. 1959. The water relations of stomatal cells and the mechanisms of stomatal movement. In: *Plant Physiology, A treatise*, Steward, F.C. Vol. II: ... 193-250.

- Hoeberichts, J.A.; Hulsebos, T.J.M.; Van Wezenbeek, P.M.G.F. y Borst-Pauwels, G.W.F.H. 1980. The site of action of 2, 4-dinitrophenol and salicylic acid upon the encoupler-induced potassium efflux from nonmetabolizing yeast (Saccharomyces cerevisiae). Biochim Biophys Acta. 595: 126-132.
- Hopp, H. y Linder, P.J. 1946. Laboratory studies on glycerin as a supplement in water-soluble herbicidal sprays. Am J Bot. 33: 598-600.
- Horton, R.F. y Moran, L. 1972. Abscisic acid inhibition of potassium influx into stomatal guard cells. Z. Pflanzenphysiol. 66: 193-196.
- Ibrahim, R.K. y Towers, G.H.N. 1960. The identification by chromatography of plant phenolic acids. Arch. Biochem. Biophys. 87: 125-128.
- Jones, R.J. y Mansfield, T.A. 1970. Suppression of stomatal opening in leaves treated with abscisic acid. J. Exp. Bot. 21: 714-719.
- Jones, R.J. y Mansfield, T.A. 1972. Effects of abscisic acid and its esters on stomatal aperture and the transpiration ratio. Physiol Plant. 26: 321-327.
- Ketellaper, H.J. 1963. Stomatal physiology. Ann Rev Plant Physiol. 14: 249-270.
- Kramer, P.J. 1959. Transpiration and the water economy of plants. In: Plant Physiology, A treatise, Steward, F.C. Vol. II: 607-612.
- Larqué-Saavedra, A. 1975. Studies on hormonal aspects of plant growth in relation to chemical and environmental treatments. Ph. D. Thesis. London Univ.
- Larqué-Saavedra, A. y Wain, R.L. 1976. Studies on plant growth regulating substances. XLII. Abscisic acid as a genetic character related to drought tolerance. Ann Appl Biol. 83: 291-297.

- Larqué-Saavedra, A. 1978. The antitranspirant effect of acetylsalicylic acid on Phaseolus vulgaris. *Physiol. Plant.* 43: 126-128.
- Larqué-Saavedra, A. 1979. Stomatal closure in response to acetylsalicylic acid treatment. *Z. Pflanzenphysiol.* 93: 371-375.
- Larsson-Raźnikiewicz, M. y Wiksell, E. 1978. Inhibition of phosphoglycerate kinase by salicylates. *Biochim. Biophys. Acta* 523: 94-100.
- Letham, D.S.; Goodwin, P.B. y Higgins, T.J.V. 1978. Phytohormones and related compounds a comprehensive treatise. Vol. II Elsevier/North Holland. Biomedical Press. Amsterdam. 632 pp.
- Levitt, J. 1967. The mechanism of stomatal action. *Planta*. 74: 101-118.
- Levitt, J. 1974. The mechanism of stomatal movement. *Once more*. *Protoplasma* 82: 1-17.
- Lipe, W.N. y Thomas, D.G. 1980. Effect of antitranspirants on yield of Norgold russet potatoes under greenhouse and field conditions. *Am Potato J.* 57: 267-273.
- Little, C.H. y Eidt, D.C. 1968. Effect of abscisic acid on budbreak and transpiration in woody species. *Nature* 220: 498-499.
- López G., H. 1972. Nuevas variedades de frijol para el estado de Sinaloa. *Agric. Tec. en Méx.* Vol. III: 150-157.
- López D., H.A. 1981. Reguladores de crecimiento I: Efecto del ácido acetil salicílico sobre algunos componentes del rendimiento en frijol (Phaseolus vulgaris L. cv. cacahuate). Tesis de Licenciatura. Fac. Ciencias. UNAM, México.

- Louguet, P. 1974. Les mécanismes du mouvement des stomates: étude critique des principales théories classique et modernes et analyse des effets du gaz carbonique sur le mouvement des stomates du Pelargonium X hortorum á l'obscurité. *Physiol Vég.* 12: 53-81.
- Mansfield, T.A. y Jones, R.J. 1971. Effects of abscisic acid on potassium uptake and starch content of stomatal guard cells. *Planta* 101: 147-158.
- Mansfield, T.A. 1978. Are chemical "antitranspirants" a lost cause? *New Bull. British Plant Regulators Group.*
- Mathur, T. y Sen, D.N. 1972. Interactions of potassium chloride and two antitranspirants on stomatal regulation in isolated leaf epidermal strips of Tephrosia purpurea. *Pers. Biochem. Physiol Pflanz.* 163: 316-319.
- Meidner, H. y Mansfield, T.A. 1968. *Physiology of stomata.* McGraw-Hill. London: 1-25.
- Merck y Co. Inc. 1976. *The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals and Drugs.* Merck and Co. Inc. 9a. USA.
- Milburn, J.A. 1979. *Water flow in plants.* Longman. London. 225 pp.
- Miranda C., S. 1979. Evolución de Phaseolus vulgaris y P. co
ccineus. En: *Contribuciones al conocimiento del frijol (Phaseolus) en México.* Editor E.M. Engleman. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 83-87pp.
- Morrison, R.T. y Boyd, R.N. 1976. *Química Orgánica.* Fondo Educativo Interamericano, México.
- Nanda, K.K.; Kumar, S. y Datta, K.S. 1977. Interaction effect of gibberellic acid an some monophenols on growth and development of Italian millet. *Indian J Agric Sci.* 47: 441-445.

- Nandi, B. y Fries, N. 1976. Volatile aldehydes, ketones, esters and terpenoids as preservatives against storage fungi in wheat. *Z. Pflanzenschutz.* 83: 284-294.
- Ogunkanmi, A.B.; Tucker, D.J. y Mansfield, T.A. 1973. An improved bio-assay for abscisic acid and other antitranspirants. *New Phytol.* 72: 277-282.
- Ogunkanmi, A.B.; Wellburn, A.R. y Mansfield, T.A. 1974. Detection and preliminary identification of endogenous antitranspirants in water-stressed Sorghum plants. *Planta.* 117: 293-302.
- Patil, B.B. y Rajat De. 1976. Influence of antitranspirants on Rapessed (Brassica campestris) plants under water-stressed and nonstressed conditions. *Plant Physiol.* 57: 941-943.
- Pearson, C.J. y Milthorpe, F.L. 1974. Structure, carbon dioxide fixation and metabolism of stomata. *Aust. J. Plant Physiol.* 1: 221-236.
- Pieterse, A.H. y Muller, L.J. 1977. Induction of flowering in Lemna gibba G3 under short-day conditions. *Plant Cell Physiol.* 18: 45-53.
- Raghavendra, A.S. y Das, V.S.R. 1977. Antitranspirant activity of inhibitors of cyclic photophosphorylation. *J Exp Bot.* 28: 480-483.
- Raschke, K. 1960. Heat transfer between the plant and the environment. *Ann Rev Plant Physiol.* 11: 111-126.
- Sargent, J.A. y Blackman, G.E. 1962. Studies on foliar penetration. I. Factors controlling the entry of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *J Exp Bot.* 13: 348-368.
- Schönherr, J. y Bukovac, M.J. 1972. Penetration of stomata by liquids. Dependence on surface tension, wettability and stomatal morphology. *Plant Physiol.* 49: 813-819.

- Skoss, J.D. 1955. Structure and composition of plant cuticle in relation to environmental factors and permeability. *Botan. Gaz.* 117: 55-72.
- Slatyer, R.O. y Bierhuizen, J.F. 1964. The effect of several foliar sprays on transpiration and water use efficiency of cotton plants. *Agric. Meteorol.* 1: 42-53.
- Smith, M.J. y Smith, P.K. 1966. *The Salicylates*. Interscience. Willey. New York. 331 pp.
- Tal, M. y Imber, D. 1970. Abnormal stomatal behaviour and hormonal imbalance flacca, a wilted mutant of tomato. II. Auxin and abscisic acid like activity. *Plant Physiol.* 46: 373-376.
- Tanaka, O.; Cleland, Ch.F. y Hillman, W.S. 1979. Inhibition of flowering in the long-day plant Lemna gibba G3 by Hutner's medium and its reversal by salicylic acid. *Plant Cell Physiol.* 20: 839-846.
- Tanaka, O. y Cleland, Ch. F. 1980. Comparison of the ability of salicylic acid and ferricyanide to induce flowering in the long-day plant, Lemna gibba G3. *Plant Physiol.* 65: 1058-1061.
- Thomson, W.A.R. 1978. *Healing plants; a Modern Herbal*. McGraw Hill. New York. 208 pp.
- Travis, A.J. y Mansfield, T.A. 1977. Studies of malate formation in isolated guard cell. *New Phytol.* 78: 541-546.
- Trejo L., C. 1981. Resistencia a la sequia IV: Efecto anti-transpirante del ácido salicílico sobre frijol (Phaseolus vulgaris L.) Tesis de Licenciatura. Fac, Ciencias UNAM, México.
- Tucker, J.D. y Mansfield, T.A. 1971. A simple bioassay for detecting "antitranspirant" activity of naturally occurring compounds such as abscisic acid. *Planta.* 98: 157-163.

- Uehara, Y.; Ogawa, T. y Shibata, K. 1975. Effects of abscisic acid and its derivatives on stomatal closing. *Plant and Cell Physiol.* 16: 543-546.
- Weaver, R.J. 1980. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Ed. Trillas, México 622 pp.
- Wellburn, A.R.; Ogunkanmi, A.B.; Fenton, R. y Mansfield, T.A. 1974. All-trans-farnesol: a naturally occurring antitranspirant? *Planta* 120: 255-263.
- Whitworth, C.W. y Carter, E.R. 1969. Effect of certain nonionic surfactants on the absorption of salicylic acid from solutions by the frog, Rana pipiens. *J. Pharm. Sci.* 58: 1285-1287.
- Wilson, J.A. y Davies, W.J. 1979. Farnesol-like antitranspirant activity and stomatal behaviour in maize and sorghum lines of different drought tolerance. *Plant Cell and Environment* 2: 49-57.
- Wright, S.T.C. y Hiron, R.W.P. 1969. Abscisic acid growth inhibitor in detached wheat leaves following a period of wilting. *Nature* 224: 719-720.
- Wright, S.T.C. 1978. Phytohormones and Stress Phenomeno. In: "Phytohormones & related compounds: A comprehensive treatise" Vol. II. Phytohormones & The Development of Higher Plants. Ed. Letham, Goodwin and Higgins. Elsevier/North Holland, Amsterdam.
- Zelitch, I. 1961. Biochemical control of stomatal opening in leaves. *Proc Nat Acad Sci.* 47: 1423-1433.
- Zelitch, I. y Waggoner, P.E. 1962. Effect of chemical control of stomata on transpiration and photosynthesis. *Proc Nat Acad Sci.* 48: 1101-1108.
- Zelitch, I. 1963. The control and mechanism of stomatal movement. In "stomata and water relations in plants". *Conn Agric Exp Sta. New Haven Bull.* 664: 18-42.

A P E N D I C E

Cuadro 1. Curva dosis-respuesta de ácido salicílico (10^{-5} a 10^{-3} M) más plyac (0.48 %) o glicerol (0.5 %) a pH 6.0 sobre transpiración de frijol. Promedio de 5 repeticiones \pm error estandard. Hecho en cámara de crecimiento.

Tratamiento AS (M)	Promedio de mg. H ₂ O cm ⁻² de hoja		% del Control	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
Control plyac	133.9 \pm 5.4	144.4 \pm 1.8	100 \pm 4.0	100 \pm 1.2
10 ⁻³ "	133.8 \pm 1.9	147.1 \pm 4.6	100 \pm 1.4	102 \pm 3.2
10 ⁻⁴ "	137.3 \pm 4.9	150.6 \pm 4.3	102 \pm 3.6	104 \pm 3.0
10 ⁻⁵ "	134.0 \pm 4.2	141.5 \pm 3.9	100 \pm 3.1	98 \pm 2.7
Control glicerol	178.9 \pm 5.0	168.1 \pm 3.8	100 \pm 2.8	100 \pm 2.3
10 ⁻³ "	159.7 \pm 5.6	167.5 \pm 5.6	89 \pm 3.1*	100 \pm 3.3
10 ⁻⁴ "	176.8 \pm 6.0	165.6 \pm 5.6	99 \pm 3.3	98 \pm 3.3
10 ⁻⁵ "	180.8 \pm 5.7	165.9 \pm 3.6	101 \pm 3.2	99 \pm 2.1

* Diferencia significativa con probabilidad máxima de error 5 %.

Cuadro 2. Curva dosis-respuesta de ácido salicílico (2×10^{-3} o 8×10^{-3} M) más ptyac (0.48 %) o glicerol (0.5 %) pH 6.0 sobre transpiración de frijol. Promedio de 5 repeticiones \pm error estándar. Hecho en cámara de crecimiento.

Tratamiento AS (M)	Promedio de mg. H ₂ O cm ⁻² de hoja		% del Control	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
Control ptyac	159.3 \pm 3.2	172.7 \pm 3.4	100 \pm 2.0	100 \pm 2.0
2X10 ⁻³ "	155.4 \pm 2.7	170.5 \pm 2.4	97 \pm 1.7	99 \pm 1.4
4X10 ⁻³ "	145.3 \pm 4.5	171.1 \pm 2.0	91 \pm 2.8*	99 \pm 1.1
6X10 ⁻³ "	142.0 \pm 3.0	161.7 \pm 4.1	89 \pm 1.9*	94 \pm 2.4
Control ptyac	128.8 \pm 3.7	138.6 \pm 3.0	100 \pm 2.9	100 \pm 2.2
**8X10 ⁻³ "	114.0 \pm 2.4	132.5 \pm 1.5	88 \pm 1.9*	96 \pm 1.1
Control glicerol	117.0 \pm 1.9	99.2 \pm 3.3	100 \pm 1.6	100 \pm 3.3
2X10 ⁻³ "	109.7 \pm 2.8	100.6 \pm 0.9	94 \pm 2.4	101 \pm 0.9
**4X10 ⁻³ "	103.2 \pm 1.0	103.5 \pm 2.7	88 \pm 0.8*	104 \pm 2.7
Control glicerol	136.2 \pm 4.0	119.8 \pm 1.1	100 \pm 2.9	100 \pm 0.9
**6X10 ⁻³ "	105.8 \pm 2.9	122.9 \pm 4.0	78 \pm 2.1*	103 \pm 3.3
***8X10 ⁻³ "	92.3 \pm 2.9	128.5 \pm 1.3	68 \pm 2.1*	107 \pm 1.1*

* Diferencia significativa con probabilidad máxima de error 5 %

** Grado de Fitotoxicidad 1 a 4 %

*** Grado de Fitotoxicidad 12 %

Cuadro 3. Curva dosis-respuesta de ácido salicílico (2×10^{-3} a 8×10^{-3} M) más glicerol (0.5 %) pH 6.0 sobre transpiración de frijol. Promedio de 5 repeticiones \pm error estándar. Hecho en invernadero.

Tratamiento AS (M)	Promedio de mg. H_2O cm^{-2} de hoja		% del Control	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
Control glicerol	117.9 \pm 1.7	108.7 \pm 1.8	100 \pm 1.4	100 \pm 1.6
2×10^{-3} "	106.1 \pm 2.3	109.9 \pm 2.0	90 \pm 1.9*	101 \pm 1.8
** 4×10^{-3} "	97.4 \pm 1.9	104.9 \pm 3.1	83 \pm 1.6*	96 \pm 2.8
Control glicerol	161.9 \pm 2.7	145.8 \pm 5.9	100 \pm 1.7	100 \pm 4.0
** 6×10^{-3} "	128.1 \pm 2.9	153.9 \pm 1.6	79 \pm 1.8*	105 \pm 1.1
** 8×10^{-3} "	110.0 \pm 4.7	149.9 \pm 2.4	68 \pm 2.9*	103 \pm 1.6

* Diferencia significativa con probabilidad máxima de error 5 %

** Grado de Fitotoxicidad 1 a 4 %

Cuadro 4. Efecto del ácido salicílico y sus análogos ($3 \times 10^{-3} M$) más plyac (0.48 %) o glicerol (0.5 %) sobre transpiración de frijol. Promedio de 5 repeticiones \pm error estandard. Hecho en cámara de crecimiento.

Tratamiento $3 \times 10^{-3} M$	Promedio de mg. H_2O cm^{-2} de hoja		% del Control	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
Control plyac	121.4 \pm 2.0	133.9 \pm 3.3	100 \pm 1.6	100 \pm 2.5
AS	104.3 \pm 4.9	129.8 \pm 3.3	86 \pm 4.0 [*]	97 \pm 2.5
Control plyac	103.9 \pm 1.3	111.1 \pm 3.3	100 \pm 1.2	100 \pm 3.0
Saligenina	107.7 \pm 2.8	107.3 \pm 4.7	104 \pm 2.7	97 \pm 4.2
Control plyac	101.7 \pm 3.4	128.5 \pm 3.8	100 \pm 3.3	100 \pm 2.9
Salicilaldoxima	98.2 \pm 3.2	121.6 \pm 2.8	97 \pm 3.1	95 \pm 2.2
Control plyac	125.6 \pm 1.3	135.7 \pm 4.2	100 \pm 1.0	100 \pm 3.1
APS	120.9 \pm 2.9	126.9 \pm 3.4	96 \pm 2.3	93 \pm 2.5
Control glicerol	99.1 \pm 1.8	117.6 \pm 3.3	100 \pm 1.8	100 \pm 2.8
AS	88.1 \pm 3.9	107.3 \pm 4.1	89 \pm 3.9 [*]	91 \pm 3.5
Control glicerol	120.8 \pm 5.3	128.4 \pm 2.9	100 \pm 4.4	100 \pm 2.2
Saligenina	130.8 \pm 7.4	138.5 \pm 2.8	108 \pm 6.1	108 \pm 2.2 [*]
Control glicerol	175.9 \pm 0.9	174.3 \pm 3.2	100 \pm 0.5	100 \pm 1.8
Salicilaldoxima	171.7 \pm 1.0	175.2 \pm 2.4	98 \pm 0.6 [*]	101 \pm 1.4
APS	165.7 \pm 2.1	182.3 \pm 2.6	94 \pm 1.2 [*]	105 \pm 1.5

* Diferencia significativa con probabilidad máxima de error 5 %

Cuadro 5. Efecto del ácido salicílico y sus análogos ($3 \times 10^{-3} M$) más ptyac (0.48 %) o glicerol (0.5 %) sobre transpiración de frijol. Promedio de 5 repeticiones \pm error estandard. Hecho en invernadero.

Tratamiento $3 \times 10^{-3} M$	Promedio de mg. H_2O cm^{-2} de hoja		% del Control	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
Control ptyac	166.6 \pm 1.8	152.4 \pm 1.2	100 \pm 1.1	100 \pm 0.8
AS	150.4 \pm 2.5	151.7 \pm 0.5	90 \pm 1.5*	99 \pm 0.3
Control ptyac	101.9 \pm 2.2	186.1 \pm 4.0	100 \pm 2.1	100 \pm 2.1
Saligenina	107.0 \pm 2.3	201.8 \pm 3.1	105 \pm 2.2	108 \pm 1.7*
Salicilaldoxima	99.2 \pm 2.4	183.4 \pm 3.5	97 \pm 2.3	98 \pm 1.9
Control ptyac	158.2 \pm 1.2	135.7 \pm 2.4	100 \pm 0.7	100 \pm 1.8
APS	153.8 \pm 4.4	135.0 \pm 7.7	97 \pm 2.8	99 \pm 5.7
Control glicerol	146.3 \pm 0.8	166.2 \pm 1.9	100 \pm 0.5	100 \pm 1.1
AS	128.3 \pm 1.1	172.6 \pm 2.1	88 \pm 0.7*	104 \pm 1.3
Control glicerol	236.7 \pm 5.9	210.4 \pm 1.4	100 \pm 2.5	100 \pm 0.7
Saligenina	232.9 \pm 2.8	211.2 \pm 4.3	98 \pm 1.2	100 \pm 2.0
Control glicerol	85.6 \pm 1.9	94.1 \pm 2.6	100 \pm 2.2	100 \pm 2.8
Salicilaldoxima	92.1 \pm 2.7	93.9 \pm 1.1	108 \pm 3.1	100 \pm 1.2
Control glicerol	116.8 \pm 1.9	102.9 \pm 1.9	100 \pm 1.6	100 \pm 1.8
APS	112.4 \pm 2.5	107.3 \pm 0.7	96 \pm 2.1	104 \pm 0.7

*Diferencia significativa con probabilidad máxima de error de 5 %

Cuadro 6. Efecto de saligenina 10^{-3} y 10^{-4} M más plyac (0.48 %) o glicerol (0.5 %) sobre transpiración de frijol. Promedio de 5 repeticiones \pm error estándar. Hecho en cámara de crecimiento.

Tratamiento Saligenina (M)	Promedio de mg. H ₂ O cm ⁻² de hoja		% del Control	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
Control plyac				
10^{-4} "	164.0 \pm 1.7	152.1 \pm 4.3	100 \pm 1.0	100 \pm 2.8
10^{-3} "	163.2 \pm 4.5	148.3 \pm 3.2	99 \pm 2.7	97 \pm 2.1
Control glicerol				
10^{-4} "	177.3 \pm 2.8	147.6 \pm 1.6	100 \pm 1.6	100 \pm 1.1
10^{-3} "	184.5 \pm 1.4	155.4 \pm 3.5	104 \pm 0.8	105 \pm 2.4*
	187.7 \pm 3.3	147.3 \pm 3.2	106 \pm 1.9*	100 \pm 2.2

* Diferencia significativa con probabilidad máxima de error 5 %

Cuadro 7. Efecto de saligenina 10^{-3} y 10^{-4} M más ptyac (0.48 %) o glicerol (0.5 %) sobre transpiración de frijol. Promedio de 5 repeticiones \pm error estándar. Hecho en invernadero.

Tratamiento Saligenina (M)	Promedio de mg. H ₂ O cm ⁻² de hoja		% del Control	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
Control ptyac	81.1 \pm 1.1	83.1 \pm 2.4	100 \pm 1.3	100 \pm 2.9
10 ⁻⁴ "	81.2 \pm 0.5	85.6 \pm 0.8	100 \pm 0.6	103 \pm 1.0
10 ⁻³ "	81.2 \pm 1.7	86.6 \pm 1.3	100 \pm 2.1	104 \pm 1.6
Control glicerol	93.7 \pm 1.3	91.0 \pm 0.9	100 \pm 1.4	100 \pm 1.0
10 ⁻⁴ "	93.5 \pm 2.5	90.0 \pm 1.1	100 \pm 2.7	99 \pm 1.2
10 ⁻³ "	92.5 \pm 1.6	87.9 \pm 2.5	99 \pm 1.7	97 \pm 2.7

Cuadro 8. Curva dosis-respuesta de salicilaldoxima (10^{-5} a 10^{-2} M) más glicerol (0.5 %) pH 6.5 sobre transpiración de frijol. Promedio de 5 repeticiones \pm error estandard. Hecho en cámara de crecimiento.

Tratamiento Salicilaldoxima (M)	Promedio de mg. H ₂ O cm ⁻² de hoja		% del Control	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
Control glicerol	175.7 \pm 6.1	164.7 \pm 2.8	100 \pm 3.5	100 \pm 1.7
10 ⁻⁵ "	166.2 \pm 6.6	164.7 \pm 2.8	95 \pm 3.7	100 \pm 1.7
10 ⁻⁴ "	167.7 \pm 6.8	163.2 \pm 4.1	95 \pm 3.9	99 \pm 2.5
Control glicerol	228.1 \pm 2.5	206.2 \pm 3.9	100 \pm 1.1	100 \pm 1.9
10 ⁻³ "	225.9 \pm 2.7	202.0 \pm 4.0	99 \pm 1.2	98 \pm 1.9
Control glicerol	198.6 \pm 1.9	171.4 \pm 1.4	100 \pm 1.0	100 \pm 0.8
**10 ⁻² "	165.2 \pm 2.6	163.3 \pm 2.7	83 \pm 1.3*	95 \pm 1.6*

* Diferencia significativa con probabilidad máxima de error 5 %

** Grado de Fitotoxicidad 1 a 4 %

Cuadro 9. Curva dosis-respuesta de salicilaldoxima (10^{-5} a 10^{-2} M) más glicerol (0.5 %) pH 6.5 sobre transpiración de frijol. Promedio de 5 repeticiones \pm error standard. Hecho en invernadero.

Tratamiento Salicilaldoxima (M)	Promedio de mg. H ₂ O cm ⁻² de hoja		% del Control	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
Control glicerol	233.8 \pm 8.9	189.6 \pm 1.8	100 \pm 3.8	100 \pm 0.9
10 ⁻⁵ "	216.5 \pm 6.9	182.9 \pm 7.4	93 \pm 2.9	96 \pm 3.9
10 ⁻⁴ "	229.2 \pm 4.9	190.3 \pm 3.6	98 \pm 2.1	100 \pm 1.9
Control glicerol	114.2 \pm 1.8	134.1 \pm 2.0	100 \pm 1.6	100 \pm 1.5
10 ⁻³ "	107.8 \pm 0.9	130.2 \pm 1.4	94 \pm 0.8 [#]	97 \pm 1.0
10 ⁻² "	94.3 \pm 0.9	122.0 \pm 0.8	83 \pm 0.8 [#]	91 \pm 0.6 [§]

* Diferencia significativa con probabilidad máxima de error 5 %

Cuadro 10. Curva dosis-respuesta de ácido palmitoil salicílico (10^{-5} a 10^{-3} M) más glicerol (0.5 %) pH 7.0 sobre transpiración de frijol. Promedio de 5 repeticiones \pm error estándar. Hecho en cámara de crecimiento.

Tratamiento APS (M)	Promedio de mg. H ₂ O cm ⁻² de hoja		% del Control	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
Control glicerol	162.2 \pm 5.3	173.1 \pm 5.3	100 \pm 3.3	100 \pm 3.1
10 ⁻⁵ "	163.4 \pm 4.5	166.1 \pm 5.5	101 \pm 2.8	96 \pm 3.2
10 ⁻⁴ "	162.1 \pm 7.0	173.6 \pm 4.3	100 \pm 4.3	100 \pm 2.5
10 ⁻³ "	153.7 \pm 3.7	159.8 \pm 3.1	95 \pm 2.3	92 \pm 1.8

Cuadro 11. Curva dosis-respuesta de ácido palmitoil salicílico (10^{-5} a 10^{-3} M) más glicerol (0.5 %) pH 7.0 sobre transpiración de frijol. Promedio de 5 repeticiones \pm error estandard. Hecho en invernadero.

Tratamiento APS (M)	Promedio de mg. H ₂ O cm ⁻² de hoja		% del Control	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
Control glicerol	189.9 \pm 4.7	144.4 \pm 5.4	100 \pm 2.5	100 \pm 3.7
10 ⁻⁵ "	185.0 \pm 3.2	136.1 \pm 2.5	97 \pm 1.7	94 \pm 1.7
10 ⁻⁴ "	192.2 \pm 2.8	144.8 \pm 3.0	101 \pm 1.5	100 \pm 2.1
10 ⁻³ "	182.0 \pm 2.6	143.4 \pm 7.5	96 \pm 1.4	99 \pm 5.2