2ej. 72

EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

P R E S E N T A

JOSE ARRALLA DE LEON PONS

UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

CONTENIDO	Páginas
CAPITULO I	
Objetivos generales	1-3
Análisis de viabilidad	1
Pruebas de germinació y efecto de las lectinas	1
Correlación lectinas-procesos fisiológicos	2
Otros objetivos	2,3
CAPITULO II	
Introducción	3-17
1).-Aglutinina y lectina	3,4
2).-Definiciones de lectina	4,5
3).-Fuentes de lectina	5
4).-Función de las lectinas en los vegetales	6-7
5).-Definiciones	7-8
A).-Sobre algunos estadios fisiológicos de semillas y plántulas	7
a).-Yemas	7
b).-Callos	8
c).-Viabilidad	8
d).-Semilla madura	8
e).-semilla latente	8
f).-Semilla dura	8
g).-Plántulas anormales	8
h).-Nódulos	8
B).-Otras definiciones	8
a).-Xilema	8
b).-Floema	8
6).-Abreviaturas de algunas lectinas	8-9
7).-Relación entre lectinas y procesos vegetales	9
a).-Actividad de aglutinación	9-10
-Lectina de Bahuinia purpurea	9-10
-Lectina de Sophora japonica	10
b).-Localización de lectinas	10-11
-Cuadro núm. 1.-Presencia y localización de lectinas en semillas y estructuras de plántulas	12

-Cuadro núm. 2.-Resumen de la localización de lectinas según Howard 13
-Cuadro núm. 3.-Localización de lectinas en semillas de Maclura pomifera según Jones 14
-Figura núm. 1.-Actividad de lectinas 15
c).-Actividad de hemaglutinina 15-17
-Figura núm. 2.-Distribución de la actividad aglutinante en la semilla 16
d).-Almacenamiento de carbohidratos 17
CAPITULO III
Generalidades. 17-29
1).-Nomenclatura de lectinas 17
a).-Nomenclaturas propuestas 18
2).-Estructura química de azúcares 18
a).-Hemiacetales 18-19
-Figura núm. 3.-Formación del hemiacetal y el acetal 19
b).-Carbonos anómero y carbonílico 19
c).-Obtención de glucósidos y galactósidos 19
-Figura núm. 4.-Reacción para la obtención de glucósidos 20
3).-Clasificación de Makela 20-22
a).-Configuración de azúcares 20-21
-Figura núm. 5.-Clasificación de piranosas en 4 grupos 21
-Figura núm. 6.-Configuraciones de azúcares estudiados por Makela, Morgan y Watkins 21
b).-Crítica a la clasificación de Makela 22
4).-Especificidad 22-23
-Figura núm. 7.-Tipos de enlace disacáridos (α y β) 23
-Figura núm. 8.-Ejemplos de azúcares más comunmente mencionados 24
5).-Clasificación de Goldstein y Hayes 24-25
6).-Relación entre lectinas y germinación 25-29
a).-Incremento de la rapidez de germinación 25-26
b).-Comparación entre CON A y FHA 26-29
CAPITULO IV
Fisiología de plantas. 30-78
1).-Localización de lectinas en células vegetales 30-34
-Figura núm. 9.-Estructuras de la semilla de soya 31,32

-Figura núm.10.-Morfología y estructuras del endotelio de la semilla de soya 32-34
2).-Interacción lectina-membranas celulares 34,35
3).-Comparación de unión entre tejidos maduro y meristemático 35,36
4).-Localización de lectinas en estructuras celulares 36,37
-Figura núm.11.-Distribución de componentes que atraviesan la membrana celular 36
5).-Localización de lectinas en estructuras vegetales 37
6).-Expresión genética 37,38
7).-Regulación genética de estructuras enzimáticas 38-41
8).-Fitohormonas 41-63
a).-Hormona vegetal 41
b).-Reguladores 41
A).-Auxinas 42-45
-Cuadro núm. 4.-Auxinas sintéticas 43
i).-Síntesis y degradación de AIA 43
ii).-Transporte de auxinas 43,44
iii).-Localización 44
-Figura núm. 12.-Estructuras del AIA y el triptofano 44
iv).-Efectos fisiológicos 44,45
a).-Sobre los tallos 44
b).-Sobre flores y hojas 44
c).-Sobre raíces 44
-Ciclo núm. 1.-Biosíntesis de auxinas 45
d).-Mecanismos de acción 45
B).-Citocininas 46-51
-Figura núm. 13.-Estructuras de la zeatina y la isopentenil-adenina 46
a).-Efectos fisiológicos 47
i).-AIA y citocininas 47-48
ii).-Retardamiento del envejecimiento 48
iii).-Expansión de cotiledones y hojas 49
iv).-Desarrollo de cloroplastos 49
v).-Efecto sobre la germinación 49-50
b).-Metabolismo 50
c).-Mecanismo de acción 50
d).-Efectos sobre el crecimiento de las plantas 50-51
C).-Giberelinas 52-56

a).-Metabolismo 53-56
-Ciclo núm. 2.-Biosíntesis de giberelinas 54
-Figura núm. 14.-Estructuras de las giberelinas:1, 7, 12 y 38 54
b).-Transporte y sitio de síntesis de giberelinas 54-55
c).-Germinación de semillas dormantes 55
d).-Mecanismo de acción 55-56
i).-Estimulación de la división celular 55
ii).-Estimulación del crecimiento celular por incremento de la hidrólisis 55
iii).-Aumento de la longitud estructural 56
D).-Acido abscísico 56-60
a).-Metabolismo 56
-Ciclo núm.3.-Biosíntesis del ABA a partir del ácido mevalónico 57
b).-Síntesis del ABA 57
-Figura núm. 15.-Estructuras del ABA y el abscisato de glucosa 57
c).-Transporte 57
d).-Efectos fisiológicos 57-59
i).-Efecto sobre la membrana plasmática 58
ii).-Inhibición de la síntesis de RNA 58
iii).-Inhibición de la síntesis de proteínas 58
iv).-Regulación estomática 58-59
e).-Mecanismo de acción 59-60
E).-Etileno 60-63
a).-Metabolismo 60-61
-Ciclo núm. 4.-Producción de etileno 61
b).-Localización y transporte 62
c).-Efectos fisiológicos 62
d).-Mecanismos de acción 62-63
i).-Relación del etileno a respuestas con auxinas 62
ii).-Unión a metaloproteínas 62
iii).-CO y CO_2 62-63
iv).-Alteración de patrones enzimáticos 63
9).-Bioquímica de la germinación de semillas 63-66
10).-Las lectinas en la fijación de nitrógeno 67-74
a).-Metabolismo del nitrógeno 67

b).-Fijación de nitrógeno atmosférico 67-69
c).-Infección Rhizobium-raíz 69-70
d).-Funcionamiento nodular 70-71
e).-Mecanismo de fijación del nitrógeno 72
-Ciclo núm.5.-Funcionamiento de la nitrogenasa, la cadena electrónica y el ciclo de Krebs 72
-Figura núm. 16.-Etapas de la reducción del nitrógeno molecular 72
i).-Proceso de nitrificación con oxígeno 73
-Figura núm. 17.-Reacción de oxidación para nitrificación 73
ii).-Proceso de desnitrificación por reducción 73
-Figura núm. 18.-Reducción del NO_3 a N_2 73
iii).-Conversión a NH_3 73
-Figura núm. 19.-Reacción de conversión a NH_3 74
11).-Relación lectinas-fitohormonas 74-76
-Tabla núm. 1.-Concentraciones de 2,4-D y cinetina empleadas para inducir aparición de lectinas 77
CAPITULO V
Estructura de la lectina de frijol soya 77-85
-Figura núm. 20.-Cromatografía de la LFS "cruda" sobre fosfato de calcio 78
-Tabla núm. 2.-Distribución de proteínas y carbohidratos 78
-Tabla núm. 3.-Determinación de aminoácidos, amonio y glucosamina después de la hidrólisis 79
-Tabla núm. 4.-Composición de la LFS purificada 79
-Figura núm. 21.-Unión del carbohidrato a la proteína 80
-Tabla núm. 5.-Composición de la AFS 81
-Figura núm. 22.-Separación de manosa por glucosaminas 81
-Figura núm. 23.-Formas anómeras alfa y beta de la 2-acetamido-2-desoxi-D-galactosa 82
-Figura núm. 24.-Uniones de la 2-acetamido-2-desoxi-D-galactosa 83
-Figura núm. 23.-Estructura de la LFS 85
CAPITULO VI.-Actividades biológicas de las lectinas 86-97
1).-Aspectos genéticos de la CON A 86-87
a).-Precursores 86
b).-Pro-CON A 86
c).-Pre-pro-CON A, pro-CON A y CON A 86-87
d).-Inducción de la génesis de lectinas 87

2).-Unión de lectinas 87-89
a).-Polaridad de azúcares 87-88
b).-Hidrofobicidad 88
c).-Uniones 89
3).-Actividades enzimática de hemaglutinación 89-90
a).-Actividad como alfa-galactosidasa 89
b).-Actividad de hemaglutinina 89
4).-Aglutinación de células oncogénicas 90-92
-Figura núm. 26.-Fenómeno de unión célula-lectina 91
-Figura núm. 27.-Primer fenómeno de inhibición 91
5).-Otras propiedades 92
-Figura núm.28.- Segundo fenómeno de inhibición 92
6).-Especificidad e inespecificidad a grupos sanguíneos 92
-Cuadro núm. 5.-Propiedades biológicas y uso de lectinas 93
-Figura núm. 29.-Substancia de grupo sanguíneo A 94
-Figura núm. 30.-Substancia de grupo sanguíneo B 94
7).-Efectos sobre la síntesis de linfocitos 95
8).-Actividad mitogénica de la LFS 95-96
-Tabla núm. 6.-Propiedades químicas, físicas y biológicas de la CON A y LFS 97
CAPITULO VIII
Discusión y conclusiones 98-105

IX.-APENDICE
Cuadros I y II 106

Las lectinas en vegetales superiores y su función en procesos fisiológicos.

I.OBJETIVOS GENERALES

Actualmente en nuestro país, se utiliza un solo método para determinar la viabilidad de las semillas, mediante la prueba bioquímica con -- cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio; es una prueba rápida, sencilla (2 a 4 horas) y de gran utilidad pues los porcentajes de germinación y viabilidad se correlacionan por ser aproximadamente iguales, excepto cuando las semillas presentan inmadurez, latencia o dureza (1).

El análisis de viabilidad es comprobado posteriormente (8 días para soya) por pruebas de germinación; sin embargo, podrían obtenerse resultados más rápidos efectuando un tratamiento a nivel de semilla con lectinas específicas extraídas de cada cultivo, ya que la rapidez con que germinan las semillas tratadas con lectinas se incrementa, y en consecuencia el período en que deben germinar se acorta. De acuerdo con los resultados de Southworth (2), la velocidad de germinación se incrementa al principio de la prueba, tendiendo luego a estabilizarse, y al final lo tratado con lectina y el control germinan a la misma velocidad. Aun así, como la prueba realizada por Southworth se efectuó con lectinas inespecíficas (Fitohemaglutinina = FHA y Concanavalina A = CON A) para Lilium longiflorum, si en este caso se usa lectina específica para soya, el estímulo tendría que ser mayor y la prueba de germinación (4 a 5 días -- mínimo y 8 días máximo; 3,4 y 5) se acercará más rápidamente a su valor real final (2 a 3 días). Es necesario enfatizar el empleo de lectinas -- específicas propias del cultivo y la variedad a investigar, utilizando como medios de comparación otras lectinas (aquí se proponen la FHA y la CON A). En el presente trabajo consideraremos tanto a la soya como a su lectina (LFS = AFS) el modelo particular que habrá de servir para com --

parar con otras lectinas.

Otras ideas centrales y fundamentales es la correlación que se hace entre las lectinas y algunos procesos fisiológicos de suma importancia agrícola como son efectos de fitohormonas, fijación de nitrógeno y germinación (ya mencionada como objetivo).

Por lo que respecta a la fijación del nitrógeno y su relación con lectinas es mucho lo que diversos investigadores (citados más adelante) especulan acerca de si realmente las aglutininas están vinculadas a este fenómeno, habiendo autores a favor y en contra, aquí trataremos de apreciar justamente el papel de las lectinas en la fijación del N_2 ya que reviste gran importancia no solamente para la agricultura sino también para la nutrición.

Igualmente, se efectuará la descripción de los procesos fisiológicos de influencia fitohormonal, considerando primeramente a las fitohormonas de crecimiento: auxinas, citocininas y giberelinas; posteriormente, a las inhibidoras: ácido abscísico (ABA) y etileno. Asimismo se estudiará la posibilidad de la existencia de una relación lectinas-fitohormonas e intentaremos encontrar que aprovechamiento podríamos lograr de esta interacción.

Un objetivo más de esta monografía, es el de reunir algo de material que introduciría a un investigador al amplio campo de las lectinas pero ya no enfocadas como tradicionalmente se hace a la genética, la medicina, a la inmunología, etc., sino a la agricultura, a través de la tecnología de granos y semillas (que se auxilia de varias ramas científicas: inmunología, bioquímica, agronomía, etc., 6 y 7), ya que han sido poco estudiadas en este aspecto las aglutininas de las semillas en el extranjero y en nuestra patria casi no existen tales investigaciones por lo que se trata de hacer llegar a la Universidad los problemas que-

representan para el país, en los renglones alimentario y económico, la-pérdida de grandes volúmenes de semillas de soya fuera de normas por bajo poder germinativo (ver cuadros I y II del apéndice).

Con respecto a los costos económicos para producir lectinas solo comentaremos que el cálculo depende del curso que se siga al realizar investigaciones; por ejemplo, si la LFS "cruda"-comparativamente barata--fuese capaz de acelerar el proceso fisiológico a tratar, no sería entonces necesario emplear lectina purificada de mucho mayor costo.

En base a lo reportado por Howard y colaboradores (8) sobre si los sitios de mayor actividad de lectina presentes en las semillas y en --- plántulas primarias y secundarias, podrían llevarse a cabo estudios en-esos estadíos del ciclo de vida vegetal para observar el comportamiento de las anormalidades -definidas como falta o defecto irreparable de cualquiera de las estructuras indispensables (9)- y en concordancia con - los resultados investigar si es posible precisamente reparar el defecto e incluso, empleando fitohormonas de crecimiento, observar si la estructura faltante o dañada pudiese brotar nuevamente.

II. INTRODUCCION.

En el presente capítulo reparsaremos algunas definiciones sobre lectinas, para enseguida entrar en los temas que conciernen a la localización, distribución y almacenamiento de estas substancias.

1.-Las palabras aglutinina y lectina.

El estudio de las aglutininas fue iniciado por Stillmark (1888), siendo el primero que describió el fenómeno de la hemaglutinación por extractos de plantas. Encontró que las semillas de Ricinus communis (frijol castor) contenían una proteína llamada ricina, capaz de aglutinar glóbulos rojos de sangre humana y de animales. En 1890 Pablo Erlich, trabajó con ricina y abrina (de Abrus precatorius) descubriendo algunos de los principios fundamentales de la inmunología. En 1908, Landsteiner y Raubitscheck, establecieron las actividades hemaglutinantes y la especificidad de varios extractos de semillas (10).

Debido a esa capacidad de aglutinar eritrocitos, originalmente -a los extractos de las semillas- se les denominó aglutininas.

Boyd y Shalpleigh (11) propusieron el término lectina en 1954, para denominar a ciertos extractos de semillas que se sabía tipificaban grupos sanguíneos. La palabra lectina proviene del latín legere seleccionar o escoger (11, 12, 13, 14).

2. Definiciones

Las lectinas son carbohidratos unidos a proteínas y glucoproteínas de origen no inmune que aglutinan células y precipitan carbohidratos complejos: polisacáridos, glucoproteínas y glucolípidos (15). Esta definición además de elegante, es muy amplia y satisfaría, tanto a bioquímicos como a inmunólogos, ya que la mayor aplicación de las lectinas se enfoca hacia la tipificación de grupos sanguíneos humanos y a la determinación del estado secretor (11 y 14). Pero en este trabajo la definición anotada -con el punto de vista que se pretende- no nos dice nada acerca de la relación de las lectinas con la germinación; sin embargo, la siguiente definición del alemán Krupe nos acerca mucho a nuestro tema central: "Las lectinas debemos interpretarlas como substancias cap-

tadoras de carbohidratos que están en las semillas para reunir y retener residuos específicos INDISPENSABLES para la GERMINACION" (13). Este párrafo está fuertemente apoyado en forma directa por los estudios y conclusiones referentes al papel de las lectinas en las semillas y que por separado reportan: Jones y colaboradores (16), Howard y colaboradores (8), Southworth (2) y Goldstein (14, 15).

Otras definiciones expresan aproximadamente lo mismo que la dada por Goldstein (15), como es el caso de la siguiente: "Las lectinas de plantas son carbohidratos unidos a glucoproteínas (aglutininas) que constituyen más del 3% del total de proteína de algunas semillas" (17). Una más dice que: "Las lectinas son proteínas definidas por su capacidad para combinarse específica y reversiblemente con azúcares" (18).

3. Fuentes de lectinas.

Están ampliamente distribuídas en la naturaleza y en muy diversas fuentes, particularmente en semillas de leguminosas. Hay autores que aseguran se encuentran en raíces, corteza y hojas (10). Las contienen asimismo tanto invertebrados como vertebrados: caracoles, anguilas, cangrejos, esponjas, líquenes, huevos, bacterias, moho y membranas celulares de otros animales (15); igualmente están en sueros de pescado, embriones de anfibio y pollo (19). En resumen se dice que las lectinas son proteínas presentes en todas partes (8) y que de hecho existen en todos los organismos de los reinos vegetal y animal incluyendo amibas sociales, en las membranas de células hepáticas (hepatolectinas) según Ashwell, así como las que intervienen en el desarrollo de embriones de los vertebrados , microorganismos y hongos (15 y 18).

4. Función de las lectinas en los vegetales.

Sus funciones no han sido establecidas con claridad, pero se sabe que juegan importante papel en los procesos vitales de las plantas. La propiedad en común -de todas las lectinas- es que se unen a carbohidratos específicos y aglutinan células. Así, la concanavalina A, se une sólo a oligosacáridos y glucoproteínas, que poseen residuos terminales α-D-glucopiranósidos y α-D-manopiranósidos (20). La lectina de soya (LFS) se une sólo a α-D-galactopiranósidos y β-D-galactopiranósidos (10, 14).

Se ha especulado mucho sobre los papeles fisiológicos de las lectinas en las plantas, pero pocos apoyan dichas funciones. Al interactuar las lectinas con células animales, los carbohidratos se complementan combinándose la lectina en su sitio específico con el carbohidrato celular. El alemán M. Krupe fue el primero en sugerir que las lectinas pueden funcionar como captadores de carbohidratos (kohlenhydatfixieren) con funciones fisiológicas cuyo papel sería el de transportar, almacenar e inmovilizar azúcares (14, 21). Es factible que estos carbohidratos captados (y que actualmente sabemos están unidos a proteínas) sirvan para cubrir las necesidades de la semilla al momento de germinar hasta nivel de plántula, cuando todavía toma nutrientes de la semilla, y que posiblemente se encuentren almacenados en los cotiledones y el embrión de las leguminosas y en el endospermo, embrión y cotiledón de las gramíneas.

Se ha sugerido que la aglutinina del trigo inhibe la síntesis de quitina, el crecimiento hifal y la germinación de esporas al unirse precisamente a las hifas de los hongos Trichoderma viride y Fusarium solani. Punnin y Saint Paul refieren que las lectinas tienen acción de anticuerpo, ya que la de Viccia cracca inhibe el crecimiento de microorganismos de tierra y metaboliza la cutícula de las semillas de estas espe-

ces. Pero en este caso falta establecer un mecanismo de transporte que explique cómo las lectinas pasan desde las semillas, a la raíz y su secreción en tierra (14,22).

Asimismo, en un interesante trabajo, Desjardins, reporta que en la infección de soya causada por el hongo Phytophtora megasperma, una glucoproteína (fracción 1) unida a manosa protege a la soya del ataque del hongo; esto constituye un indicio de que efectivamente las lectinas protegen a la soya contra las infecciones (23).

En otro reporte Yoshikawa y colaboradores (24) establecen que al entrar en contacto hongos patógenos con tejidos de soya inician la liberación de fitoalexina, la cual se acumula en la planta. Las fitoalexinas son antibióticos de bajo peso molecular que aparecen después de la infección por bacterias confiriendo resistencia natural contra la enfermedad. Sin embargo, los mecanismos de interacción y síntesis aún no están bien comprendidos.

Otra hipótesis predice una relación entre la aglutinina de leguminosas y bacteria del género Rhizobium, encontradas en los nódulos de las plantas y emite la proposición de que la lectina puede unir la bacteria a la raíz (15). Dazzo y colaboradores, aislaron de trébol (Trifolium pratense) una lectina que une microorganismos (Rhizobium trifolii) a la raíz de trébol.

5.- Definiciones.

A).-Sobre algunos estadios fisiológicos de semillas y plántulas.

a).-Yemas. Brote o tallo sin alargar, pequeña protuberancia lateral en algunas hojas y raíces que contiene rudimentos de hojas o partes florales o ambas; es decir, son tallos pequeños con hojas muy dobladas y empacadas y al abrirse el brote, las hojitas se expanden produciendo nuevas ramas, hojas y flores.

b).-Callos. Son masas de células no especializadas que han sido cortadas de la base y en la zona del corte se forma el callo que desarrolla raíz y luego tallo.

c).-Viabilidad. Grado de capacidad para sobrevivir, vivir y potencialmente reanudar el crecimiento (1, 3 y 25).

d).-Semilla madura. La semilla madura consiste de un embrión rodeado por una o mas cubiertas seminales y por el alimento almacenado en el endosperm o o dentro del embrión en los cotiledones (25).

e).-Semilla latente. Son las que presentan letargo embrional debido a un desarrollo rudimentario o insuficiente del propio embrión (25).

f).-Semilla dura. Son las que no absorben agua porque tienen cubierta impermeable(3), o ésta impide entre O_2 o posee inhibidores químicos (5).

g).-Plántulas anormales. Son las que tienen defectos irreparables y que impiden el desarrollo completo de la planta (9).

h).-Nódulos. Abultamiento de las raíces de ciertas plantas en las que viven bacterias fijadoras de nitrógeno (25). Para la ampliación de éste importante tema consultar las referencias 26, 27, 28, 29 y 30.

5).-Otras definiciones.

a).-Xilema.Es región conductora que transporta agua y sales minerales disueltas en ella.

b).-Floema. Región conductora epidérmica formada por diversas estructuras tales como fibras, vasos, tubos, etc. que constituyen el principal tejido conductor de alimentos que transporta nutrientes elaborados por las hojas (25).

6.-Abreviaturas de algunas lectinas.

Aclaramos en esta introducción , que de la literatura encontrada, la mayoría en idioma inglés, las siglas utilizadas para abreviar los nom --

bres de las lectinas, han sido modificadas en el presente trabajo, adaptándolas a nuestro idioma, por lo que enseguida anotamos las equivalencias entre abreviaturas:

ESPAÑOL	NOMBRE COMUN	INGLES
LFS	Lectina de frijol soya	SBL
AFS	Aglutinina de frijol soya	SBA
CON A	Concanavalina A	CON A
AGT	Aglutinina de trigo	WGA
FHA	Fitohemaglutinina	PHA

Nota: AFS = LFS

7.-Relación entre lectinas y procesos vegetales.

Sobre las funciones de las lectinas , el trabajo de Boyd y colaboradores(31) es uno de los más sencillos y abundantes en datos. En cambio,-- Howard(8) y Jones(16) nos abren el camino para conocer un poco sobre la - localización de lectinas en las semillas y a otros niveles del ciclo de- vida vegetal, aunque sus respectivos artículos terminan refiriéndose a la función de estas substancias en las semillas y plántulas. En estos tres - reportes se utilizaron las propiedades de aglutinación de los diferentes- extractos de semillas, Howard empleó los procedimientos de adsorción-elución y el de doble difusión en gel de Ouchterlony, y Jones usó la electroforesis.

a).-Actividad de aglutinación.

Boyd y colaboradores(31) reportan que las semillas de Bahuinia purpurea aglutinan eritrocitos humanos de tipos N y MN. Solamente los extractos de las semillas de árboles con flores blancas, y semillas circulares--esféricas reaccionan como anti-N, no así las de árboles sin flores y de- forma oval. En su trabajo este mismo investigador especula sobre la consideración que otros autores hacen (32) de que las aglutininas de las plan-

tas son veraderos anticuerpos formados en respuesta a un antígeno, lo -- cual nunca fue observado por Boyd.

La lectina obtenida de las semillas de Sophora japonica (acacia del - Japón o sófora colgante, 33) aglutina eritrocitos de grupos sanguíneos A, B y AB; pero no es capaz de aglutinar sangres de tipos O, N y MN (que sí son aglutinados por la lectina de Bahuinia). Por esta razón se consideró- que los azúcares y la proteína que conforman la lectina de sófora deberían ser diferentes a los que constituyen la lectina de Bahuinia.

El descubrimiento de la lectina de Bahuinia purpurea, timbe o pata de vaca (34), y los estudios de otros investigadores sobre la actividad de - aglutinación y la especificidad e inhibición por ciertos carbohidratos, - sugieren un posible papel fisiológico de la lectina en la planta. Así -- Boyd se pregunta: ¿pueden no tener función de captación de carbohidratos?

b).-Localización de lectinas.

De acuerdo con los datos reportados por Howard (8), prácticamente no- se localiza actividad de lectina en la cutícula de la semilla. En los cotiledones y en el embrión sí hay actividad de lectinas. (Howard obtuvo -- sus datos trabajando con lectina extraída de Lens culinaris: lenteja). La mayor cantidad de lectina está asociada con los cotiledones; raíces y tallos tienen poca lectina y al estar desarrollándose (plántula) se notó -- menos cantidad de lectina en los cotiledones(2 a 3 semanas de desarrollo).

Durante las siguientes cuatro semanas de crecimiento de las plantas,- no se localizó actividad de lectina en ninguna de sus partes y a las 7 a 8 semanas, al aparecer los frutos, tampoco se detectó lectina. Al conti-- nuar con el desarrollo de la planta, hasta aparición de vainas y semillas inmaduras(verdes y de 2 mm de diámetro), tampoco aparece lectina en esas- estructuras. Al madurar las semillas, aparecen las lectinas en ellas. La- presencia de las lectinas en los períodos del desarrollo primario(o tem--

prano) y de diferenciación del embrión, sugieren que la función de estas proteínas está involucrada con los procesos de germinación y maduración.

Hay autores(Boyd y otros), que han notado una mayor o menor asociación de las lectinas con la madurez y la germinación de las semillas y plantas jóvenes.

Cualquiera de las funciones que se sugieren pueden, en principio, operar en la embriogénesis y alternativamente las lectinas pueden actuar como estimuladores de la mitosis de las células del embrión. Ling, Young y Leon así como otros autores indican que los linfocitos de animales-son células que normalmente no crecen en los medios de cultivo-pueden ser estimuladas para que se multipliquen por interacción con antígenos, anticuerpos y lectinas(ver cuadros 1 y 2).

CUADRO NUM. 1. PRESENCIA Y LOCALIZACION DE LECTINAS EN SEMILLAS Y ESTRUCTURAS DE PLANTULAS (8).

	E S T R U C T U R A S																	
	CUTICULA		COTILEDON		EMBRION		RAIZ		TALLO		HOJA		FLOR		VAINA	
	HA	I	HA	I	HA	I	HA	I	HA	I	HA	I	HA	I	HA	I
I. DESARROLLO DE LA PLANTULA																		
L. C. (H)																		
1. Plántula al brotar (1 semana de edad)	±	O	+2	+2	+	+	+	+	+	+								
2. Plántula madura	O	O	+	+	±	±	±	±	±	±	O	O	O	O	O	O		
II. DESARROLLO DE LA SEMILLA																		
L. C. (H)																		
1. Semillas pequeñas	O	O	O	O	NR	NR												
2. Semillas medianas	±	O	+2	+2	NR	NR												
3. Semillas maduras	±	O	+4	+3	+2	+2												

C L A V E S :

(H) = Howard
L.C. = Lens culinaris
Ha = Hemaglutinación
I = Inmunodifusión
NR = Análisis no realizado

ESCALA PARA INTERPRETAR DATOS:

+4 = Hemaglutinación muy fuerte
+3 = Línea muy fuerte de Inmunodifusión
+2 = Hemaglutinación fuerte o Inmunodifusión fuerte.
\+ = Hemaglutinación e inmunodifusión débil.
± = Hemaglutinación débil, inmunodifusión muy débil.
O = Sin actividad.

CUADRO NUM. 2. RESUMEN DE LA LOCALIZACION DE LAS LECTINAS SEGUN HOWARD (8).

ESTRUCTURA	DATO INTERPRETADO	ESTRUCTURA	DATO INTERPRETADO
Semilla madura	Ha muy fuerte	Semilla verde	Sin actividad
	I muy fuerte	Vaina	Sin actividad
Cotiledón	Ha muy fuerte a débil	Hojas	Sin actividad
	I muy fuerte a débil	Escutelo	Sin actividad
Embrión	Ha de fuerte a muy débil	Cutícula	Sin actividad
	I de fuerte a muy débil		
Tallo	Ha de débil a muy débil		
	I de débil a muy débil		
Raíz	Ha de débil a muy débil		
	I de débil a muy débil		

(PARA CLAVES DE Ha e I, VER CUADRO NUM. 1).

CUADRO NUM. 3. LOCALIZACION DE LECTINAS EN SEMILLAS DE MACLURA POMIFERA SEGUN JONES (16).

	E S T R U C T U R A S					
	Cotiledón (Sin Cultivar)	Cotiledón (Cultivado)	Epicótilo	Hipocótilo	Cutícula	Fruto
Actividad de aglutinación	8-4	4	10-8	4	0	0

ESCALA PARA INTERPRETAR DATOS:

10 = Actividad muy fuerte.

8 = Actividad fuerte.

4 = Actividad media.

0 = Sin actividad.

Jones (16) resume los resultados de su trabajo con lectinas (en la figura núm. 1) obtenidas de semillas de Maclura pomifera: árbol conocido comúnmente como naranjo chino y clasificado actualmente como Toxylon pommiferum (34).

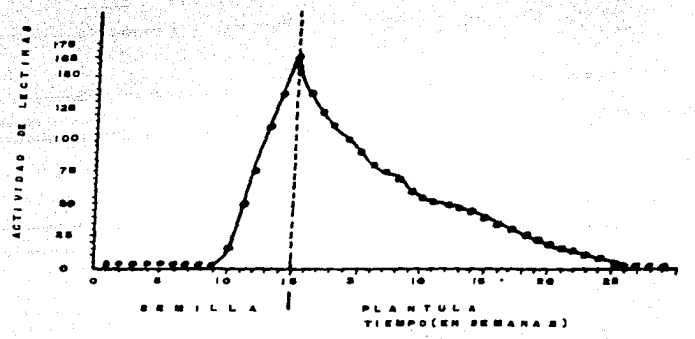


FIGURA NUM. 1.- Actividad (recíproco del título) de extracto salino de semillas y plántulas de varias edades contra eritrocitos (pico máximo 165, 15).

c).-Actividad de hemaglutinina.

La actividad se detectó en las semillas a las primeras 10 semanas y se incrementó en un máximo hasta alcanzar la madurez en 15 semanas. La actividad de hemaglutinina comenzó a decrecer después de la germinación de las semillas, pero aún se detectaba-a bajas concentraciones- en la plántula hasta los 6 meses de edad. En las hojas no se encontró actividad, así como tampoco en la cutícula (cubierta) de las semillas. En todas las partes restantes de la semilla en mayor o menor grado se detectaron componentes aglutinantes (ver figura núm. 2).

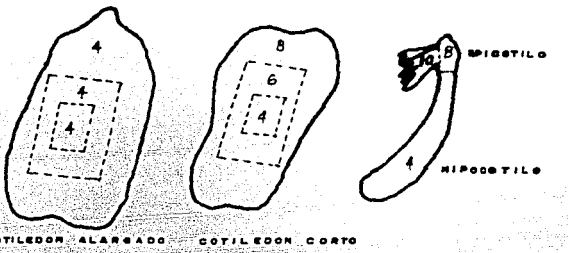


FIGURA NUM. 2.- Distribución de la actividad aglutinante en la semilla.

La mayor cantidad de lectina se observó en el epicótilo. Esta estructura es la porción del eje de la plántula comprendida entre el punto de unión de los cotiledones y el de la primera hoja o par de hojas - (9). Otros autores consideran que es la parte del eje de un embrión situada por encima de la región de implantación de los cotiledones (25). En las semillas más que en cualquier otro estado de vida de la planta, hay mayor cantidad de lectina. La pérdida de actividad de las lectinas con la germinación quizás esté relacionada con la actividad proteolítica, que puede ser el mecanismo de pérdida de lectinas durante la germinación. Al parecer, hay una relación inversa entre la cantidad de polisacáridos y la actividad de las lectinas (ésto estaría de acuerdo con la teoría de unión de carbohidratos por lectinas); puesto , que si se incrementan los carbohidratos, se reduce la actividad de la hemaglutinina. Otro dato importante es que las lectinas no se inactivan a 70°C. Boyd (31) sugiere que las aglutininas, al ser inhibidas por los carbohidratos, pueden funcionar en el almacenamiento y transporte de éstos

en las plantas. Es muy notorio que hay más lectinas encontradas en las - semillas de leguminosas que en cualquier otra familia, y estas lectinas- -asegura Jones-están principalmente involucradas con el almacén de pro-- teínas y no con el de carbohidratos.

d).-Almacenamiento de carbohidratos.

La especificidad de las lectinas-continúa Jones- es una llave para - conocer su función natural; la idea del transporte,puede ser una gran - posibilidad para que durante la germinación de la semilla, ella pueda - funcionar-en ese momento-con una rápida conversión de productos almace-- nados a carbohidratos. Si la abundancia relativa de lectinas en la fa--- milia de las leguminosas representa material involucrado en el almacén- de carbohidratos, podemos esperar una abundancia igual de materiales -- relacionados con el almacén de proteínas. El concepto básico del alma--- cenamiento de carbohidratos quizá deba reconsiderarse debido al hecho -- de que la mayoría de las semillas de la familia de las leguminosas al-- macenan proteínas en un grado mayor que carbohidratos(recomendamos la -- lectura de las referencias 35 y 36).

Para el almacenamiento de carbohidratos se requiere un mecanismo de- transporte e inmovilización, y las proteínas unidas a carbohidratos es- pecíficos están adaptados para esos propósitos. La similitud o identi--- dad de los carbohidratos almacenados por la semilla y aquellos que com- ponen los receptores de grupo sanguíneo puede ser accidental, pero la - correspondiente complementariedad de los grupos de lectinas para la es-- tructura de los carbohidratos no puede ser accidental. Krupe sugiere a - los botánicos la investigación de estas proteínas como captadoras de -- carbohidratos(31).

III.-GENERALIDADES.

1).-Nomenclatura de lectinas.

a).-Nomenclaturas propuestas.

En toda área científica es necesario establecer una nomenclatura sistemática, siendo este un problema poco estudiado por lo que respecta al campo bioquímico de las lectinas. Los nombres de unas cuantas lectinas se derivan del origen de su género(por ejemplo: Concanavalina A de Canavalia ensiformis, ricina de Ricinus communis, abrina de Abrus precatorius y favina de Vicia faba); otras llevan nombres comunes(lectinas de: frijol soya, frijol lima, chícharo, etc., correspondientes a Glycine max Phaseolus lunatus y Pisum sativum, respectivamente, 14).

Otra de las nomenclaturas propuestas es la de utilizar la serología de grupos sanguíneos para aglutininas de plantas y animales. Un ejemplo de esta nomenclatura es el de las lectinas de Dolichus biflorus y Helix pomatia que aglutinan eritrocitos tipo A, denominándoseles ADb y AHp; la A representa al antígeno, y las letras Db y Hp son las iniciales del nombre en latín. En esta nomenclatura se tienen deficiencias, ya que es posible que varias lectinas con diferentes especificidades de unión del azúcar estén presentes en la misma semilla(o sea, pueden unirse a dos o más azúcares mostrando especificidad de unión con ambos carbohidratos). Por ejemplo, Ulex europeus se une con α-L-fucopiranosilo y 2-acetamido-2-desoxi-β-D-glucopiranosilo. Por otro lado, la CON A no muestra especificidad para ningún grupo sanguíneo, y de este modo pueden citarse muchas lectinas que son inespecíficas para grupo sanguíneo y no pueden clasificarse de la manera ya indicada(14).

2).-Estructura química de azúcares.

Para comprender otras nomenclaturas que han sido propuestas, es necesario adentrarse un poco en la estructura y propiedades químicas de los azúcares.

a).-Hemiacetales.

La reacción entre un aldehído y un alcohol forma un HEMIACETAL, que- contiene un átomo de carbono asimétrico. La formación de piranosas es - la reacción entre un aldehído y un alcohol, y si tiene un átomo de carbono asimétrico puede existir en las dos formas estereoisómeras α y β (37).

b).-Carbonos anómero y carbonílico.

Las formas isómeras de los monosacáridos que sólo difieren entre sí- en la configuración del átomo de C carbonílico se denominan ANOMEROS, y- el átomo de carbono carbonílico se llama C anomérico. Solamente aquellos monosacáridos que poseen 5 o más átomos de carbono pueden formar ani--- llos estables y existir en formas anoméricas (38).

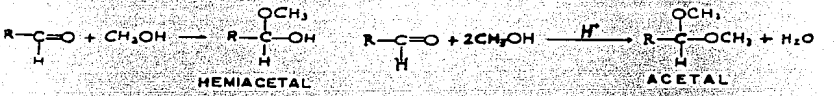


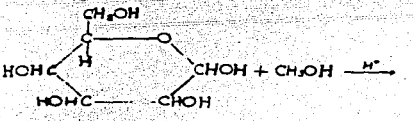
FIGURA NUM. 3.-Formación del hemiacetal y del acetal(37). Nótese que el- carbono del hemiacetal tiene un grupo -OH y un -OR. En - cambio, el carbono del acetal tiene 2 grupos -OR(37).

c).-Obtención de glucósidos y galactósidos.

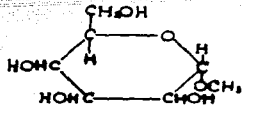
Los glucósidos son aquellos que se obtienen de la glucosa(39), los - galactósidos se obtienen de la galactosa, etc. Los glucósidos se obtie--- nen haciendo reaccionar la D-glucosa con alcohol metílico y ácido clor-- hídrico(ver figura 4). Los piranósidos son los que tienen un anillo de 6 miembros, los furanósidos son los que tienen un anillo de 5 miembros y- los acetales de los azúcares se llaman glucósidos.

Aunque la interacción de las lectinas con polisacáridos, glucoproteínas y glucolípidos es más compleja que las de los azúcares más sencillos, los resultados de estudios por inhibición de haptenos(substancias no inmunógenas, que pueden reaccionar con anticuerpos de especificidad apro--

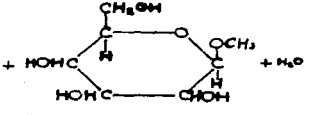
piada, 40) empleando mono y oligosacáridos así como sus derivados se aplican al estudio de sacáridos complejos(14). Las interacciones inespecíficas entre la lectina y la macromolécula, así como la influencia de factores estéricos(fuerzas de Van Der Waals de atracción y repulsión, interacciones dipolo-dipolo, ángulo de orbitales, puentes de hidrógeno,etc.), son factores que afectan la conformación de las moléculas y para su estudio recomendamos remitirse a las referencias siguientes: (37, 38, 39, 41, 42 y 43). Dichos factores deberán considerarse para la interacción específica entre los carbohidratos y las lectinas.



CUALQUIER GLUCOPIRANOSA



METIL α -D-GLUCOPIRANOSIDO



METIL β -D-GLUCOPIRANOSIDO

FIGURA NUM. 4.-Reacción para la obtención de glucósidos(39).

3).-Clasificación de Makela.

a).-Configuración de azúcares.

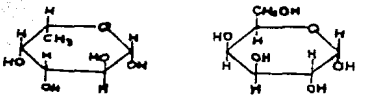
Morgan y Watkins observaron que los azúcares L-fucosa y L-galactosa inhiben la unión de la L-fucosa con la lectina de Lotus tetragonolobus y Krupe observó que los azúcares 2-acetamido-2-desoxi-D-galactosa y D-galactosa inhiben la aglutinina de las semillas de Sophora japonica. Makela sugirió que los monosacáridos de las lectinas reactivas pueden clasificarse en 4 clases, basándose en la configuración de los carbonos 3 y 4 de las formas piranosas de la figura número 5,(14).

Los azúcares estudiados por Morgan y Watkins tienen la misma configuración para los carbonos 3 y 4 (son del grupo I de Makela, según estructura de la L-fucosa, ver figura Número 6). Los estudiados por Krupe tienen la misma configuración(D-galactosa) para los carbonos 3 y 4 y son -- del grupo II de Makela.

I II III IV

FIGURA NUM. 5.-Clasificación de piranosas en cuatro grupos, basados en - las configuraciones de los grupos hidroxilo de los carbonos en posiciones 3 y 4.

Las aglutininas de chícharo y lenteja unen preferencialmente azúca-- res del grupo III de Makela y son inhibidas por D-glucosa y D-manosa - en tanto que las lectinas de Sophora japonica y de Ricinus communis - son inhibidas por carbohidratos del grupo II de Makela.



L- FUCOSA D-GALACTOSA

FIGURA NUM.6.-Configuraciones de azúcares estudiados por Makela, Morgan - y Watkins, donde se nota que los carbonos en posiciones 3- y 4 corresponden a los grupos I y II, respectivamente(14).

Azúcares del grupo I inhiben las lectinas de Lotus tetragonolobus- y la L-fucosa une la lectina de Ulex europeus. Aún no han sido aisladas- lectinas que interaccionen con el grupo IV de Makela(L-glucosa y L-xilosa), siendo ésta una de las limitaciones de esta clasificación(14).

b).-Crítica a la clasificación de Makela.

La LFS es inhibida por 2-acetamido-2-desoxi-α-D-galactopiranosa y - por 2-acetamido-2-dexosi-β-D-galactopiranosa. De la clasificación de Makela en 4 grupos, y basado en las configuraciones de los carbonos 3 y 4 de la piranosa, Krupe enlistó tres grupos. Lo racional de este sistema - es que las lectinas pueden usualmente asignarse a uno de los cuatro grupos(ver figura núm. 5); sin embargo, este trabajo tiene limitaciones -- grandes DEBIDO A QUE OMITE LAS CONFIGURACIONES DEL CARBONO 2 Y DEL ATOMO DE CARBONO ANOMERICO (C # 1). El grupo IV no tiene lectinas con que - interaccionar y, muchas lectinas toleran variaciones del carbono 2, pero el caso es que sí existen enlaces de unión con dicho carbono y también - se ha observado que la CON A-por ejemplo-exhibe especificidad anomérica (14), pero Makela omite esa especificidad al clasificar así a las lec--- tinas. El hecho de que varias lectinas unan di y tri sacáridos más fuertemente que los alkil-glucósidos indica que el azúcar reducido quizás - contribuya a la energía de enlace del complejo lectina-carbohidrato. Un trisacárido inhibe la lectina de soya mejor que el disacárido correspondiente, que ha perdido su residuo reducido del azúcar.

4).-Especificidad.

Las lectinas difieren marcadamente con relación a su especificidad- anomérica. Algunas de estas lectinas(tales como: CON A, chícharo y Lotus tetragonolobus), exhiben pronunciada especificidad anomérica, mien-- tras que otras lectinas como la LFS y la de frijol castor parecen ser - casi indiferentes. Muchas lectinas toleran variaciones de posición(del - -OH del carbono 2) de los azúcares a los cuales se unen. La CON A, lec-- tinas de lenteja, chícharo y otras, muestran todas ellas una especificidad PRIMARIA para D-manosa, pero pueden unirse también a D-glucosa

y en menor grado a 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa. Un número considera-- ble de lectinas muestra afinidad preferencial por 2-acetamido-2-desoxi-- D-galactosa, pero también reaccionan con otros residuos diferentes(ejem plo de ellos son: lectinas de Helix pomatia, Dolichos biflorus y Phaseo- lus lunatus). Por otro lado, hay series de lectinas que tienen especifi- cidad primaria para D-galactosa y en grado variable dan reacción cruzada con 2-acetamida-2-desoxi-D-galactosa. En general las lectinas toleran- muy poca variación del carbono 3 de los azúcares a los cuales se - unen: por ejemplo, la de Vicia faba muestra mayor afinidad por 3-O-me-- til-D-glucosa que por D-glucosa(14).

El grupo -OH del carbono 4 está también involucrado en el enlace con lectinas, y las que se unen a D-glucosa (D-manosa) no interactúan - con D-galactosa y viceversa(debido a las diferencias de posición del - -OH del carbono 4).

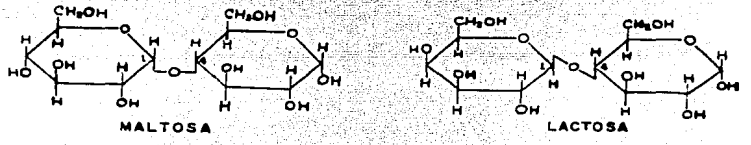


FIGURA NUMERO 7.-Tipos de enlace de disacáridos, donde se muestran las- formas α y β así como las posiciones de los carbonos que forman el enlace disacárido.

La reacción de un monosacárido con los grupos hidroxilo de otros mo nosacáridos forman el enlace glucosídico de los disacáridos, siendo este enlace la ligadura del acetal. Ciertos azúcares en su forma furanosa se- unen a la concanavalina A, por ejemplo:D-fructosa y D-arabinosa.

5.-Clasificación de Goldstein y Hayes.

Finalmente, la mejor clasificación de lectinas es la sugerida por - Goldstin y Hayes(14), la cual es más racional, se apega más a lo lógico- y cubre aspectos y detalles que las demás clasificaciones-ya anotadas - no toman en cuenta.

Ya que nuevas lectinas están siendo aisladas, caracterizadas y utilizadas en cierta variedad de sistemas, Goldstein y Hayes sugieren una - nomenclatura que cite: género y especie, seguida entre paréntesis la -- unión específica del azúcar. Existen casos en que una lectina no es completamente específica para un sólo azúcar y forma anomérica, por lo que- puede ser necesario citar 2 o 3 estructuras. Si por otro lado, la lectina no muestra preferencia anomérica, el azúcar puede ser mencionado sin la designación α o β.

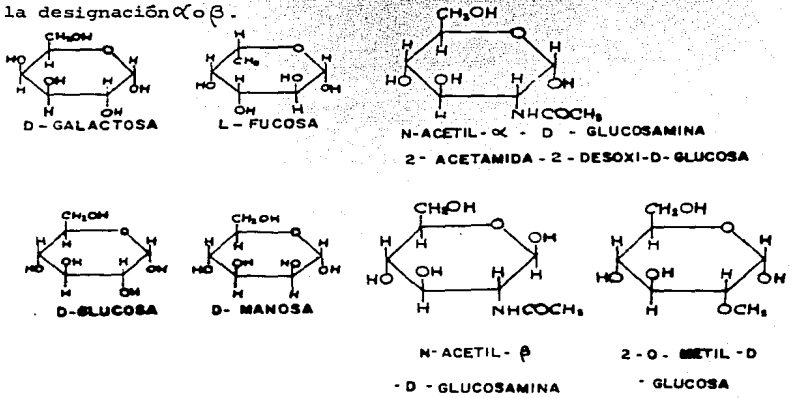


FIGURA NUM. 8.-Ejemplos de azúcares más comunmente mencionados en el -- presente trabajo monográfico(37, 38, 39, 44 y 45).

Ejemplos de azúcares y lectinas utilizando la clasificación de Goldstein y Hayes:

GENERO	ESPECIE	
1.-	Glycine	max (α-D-Gal N Ac p ≥ β-D-Gal N Ac p≫α-D-Gal p)
2.-	Canavalia	ensiformis (α-D-Man p>α-D-Glc p>α-D-Glc N Ac p)
3.-	Lotus	tetragonolobus (α-L-Fuc p)
4.-	Lens	culinaris (α-D-Man p>α-D-Glc p, α-D-Glc N Ac p)
5.-	Pisum	sativum (α-D-Man p>α-D-Glc p,α-D-Glc N Ac p)

Claves para interpretar las abreviaturas de monosacáridos que se -- utilizan en el presente trabajo.

MONOSACARIDOS	ABREVIATURAS
Glucosa	Glc
Galactosa	Gal
Manosa	Man
L-fucosa	L-Fuc
N-acetilglucosamina	Glc N Ac
N-acetilgalactosamina	Gal N Ac
Acido N-acetilneuramínico	Neu N Ac

p = piranosa

N = nitrógeno

Ac = acetil

>= especificidad mayor que

Nota: Todos los azúcares son de la configuración dextro a menos que se indique en la misma estructura otra configuración.

6.-Relación entre lectinas y germinación.

a).-Incremento en la rapidez de germinación.

Darlene Southworth (2), comunica que, la CON A y la FHA estimulan el- polen de Lilium longiflorum, para que germine más rápidamente que los con troles, reduciendo el período lag. Con tratamiento a la concentración de 1 mg/ml de CON A, gran porcentaje de granos de polen germinaron durante -

la primera hora, sin tratamiento(control), germinaron durante la tercera hora. Con 100 μg/ml de CON A, el máximo grado de germinación ocurrió en- la segunada hora, mientras que a 10μg/ml la germinación fue ligeramente- mayor que el control y a 1 μg/ml fue ligeramente menor que el control. - La proporción total del polen germinado se aproxima al mismo valor para- el control después de 6 horas para todas las concentraciones de CON A - probadas. Al añadir 0.1 ml de α-metilmanósido, que es un inhibidor competitivo de uniones de CON A, el efecto estimulador se redujo en un 20 a 50%. Berkowitz y Travis (46), encontraron que la CON A se une a las membranas de la raíz de soya, y que la máxima unión ocurre a concentraciones de CON A en el intervalo de 8 - 16% del total de las proteínas de -- membrana, con tiempo de incubación mayor de 40 minutos a 22°C. La unión- es reversible, ya que más del 92% del total de CON A unida se libera al- agregar α-metilmanósido.

Con el polen maduro almacenado siete semanas, el período lag se acortó aproximadamente 2 horas y el máximo porcentaje de germinación alcanzado fue doble cuando la CON A se agregó al medio de germinación.

b).-Comparación entre CON A y FHA.

El efecto estimulador de la FHA-indica Southworth-es mayor que el de la CON A ya que un número mayor de granos de polen germinó con 1 mg/ml- de fitohemaglutinina durante la primera hora, en comparación con la concanavalina A también a concentración de 1 mg/ml. Los experimentos a un - tiempo mayor de 20 horas muestran que el máximo porcentaje de granos --- eventualmente germinados del testigo es similar al de los que germinaron con FHA o CON A estos datos coinciden con lo reportado por Howard y - Jones (véase las páginas 10 a 17 de la introducción), ya que a ma-----

yor tiempo se reduce el efecto o sea que ya no se utiliza la lectina.

El polen tratado con FHA a 100µg/ml germinó ligeramente más rápido que el control, mientras que a 10µg/ml la diferencia con el control no fue significativa.

Se sabe que las lectinas se unen a las superficies celulares de eritrocitos, fibroblastos, linfocitos y espermatozoides de ciertos animales, lo cual insinúa que el estímulo (de las lectinas) y el control primario de los procesos de germinación pueden ocurrir en la membrana plasmática. Berkowitz y Travis (46) parecen apoyar este hecho, ya que sus resultados indican que los sitios de unión de la CON A están presentes sobre las membranas del retículo endoplasmático, y además los protoplastos de diversas plantas tienen la capacidad de unirse a la CON A. Estos mismos autores estudiaron la capacidad de unión de la CON A con membranas plasmáticas aisladas de regiones meristemáticas y maduras de la raíz de soya. El meristemo es tejido indiferenciado constituído por células parenquimáticas capaces de dividirse activamente y de diferenciarse para dar lugar a los restantes tipos de células (25).

Las células parenquimáticas conforman el tejido fundamental del que derivan por especialización todos los demás; las células parenquimatosas de las puntas de raíces y tallos en crecimiento constituyen el denominado tejido meristemático, cuyas células se hallan en un estado de división activa dando origen a los tejidos primarios del vegetal (25). Estos mismos investigadores han encontrado que las membranas plasmáticas aisladas de tejido meristemático se unen más significativamente a la CON A que las membranas correspondientes de tejido maduro. Ya que la CON A interactúa específicamente con sacáridos conteniendo porciones de glucopro-

tenías y glucolípidos de membrana, se infiere -a partir de los datos obtenidos (47)- que hay un decrecimiento de la concentración de estos componentes en la membrana plasmática durante el desarrollo, o bien que se trata de cambios cualitativos en la estructura de los extremos de las cadenas de oligosacáridos (los trabajos de Berkowitz y Travis apoyan indirectamente el papel de las lectinas mencionado en la página 6, capítulo I).

La germinación del polen -continúa Southworth- es afectada por azúcares e iones, especialmente calcio, el cual es tomado del medio exterior, ya sea in vivo o in vitro. Una alteración de las propiedades permeables de la membrana plasmática por unión de las lectinas puede conducir a una mayor toma de agua o nutrientes para la germinación. Substancias que se unen a la CON A han sido encontradas en las paredes de los granos de polen; sin embargo, ellas pueden ser disueltas (o lixiviadas) fuera de las paredes. Finalmente concluye la autora que el estímulo de la germinación del polen por CON A y por PHA se manifiesta por una reducción en el período lag. Es posible que los eventos mediados por las lectinas in vitro puedan ocurrir durante la germinación normal in vivo. De aquí surge una de nuestras hipótesis fundamentales: La observación del acortamiento del período de germinación pero en semillas de soya. Para ésto, las condiciones de almacenamiento reportadas como óptimas para la conservación de la semilla de soya son : humedad de la semilla 12%, humedad relativa 60 - 65%, temperatura 15 - 20°C (48); lo anterior, se debe a que la semilla a utilizar deberá estar en reposo de uno a dos meses después de cosechada y además tendrá que cumplir con normas de certificación estrictas: no deberá contener grano verde, chu-

pado, ahongado, pequeño, estrellado, quebrado, ni estar infestado por in-- sectos,ni contaminado por bacterias o virus, no contendrá materiales inertes, ni estará pregerminado e igualmente se deben garantizar su pureza genética y 100% de pureza varietal. Una vez cumplido el período de reposo -- mencionado, se deberá efectuar una extracción de la LFS cruda y posteriormente altamente purificada. Ya obtenida la LFS específica de la variedad,- la semilla deberá ser tratada con lectina a concentraciones desde 10 mg/ml hasta 100 μg/ml acorde con los datos de Southworth(2), teniendo como me--- dios de comparación-además de los testigos-la CON A y la PHA.(Esta última lectina mencionada, se produce-a pequeña escala-en el laboratorio Micro--- LAB, ubicado en esta ciudad, y produce la PHA con una pureza muy aceptable ya que es utilizada como mitógeno para determinar cariotipo en linfocitos- humanos, con excelentes resultados). Posteriormente, las semillas pretrata das se siembran para su germinación.

IV.-FISIOLOGIA DE PLANTAS.

En el presente capítulo no se pretenden cubrir todos los aspectos --- concernientes a la fisiología de vegetales, sino solamente ciertas partes de los procesos que involucren a las lectinas o bien que se vislumbre una posible relación con éstas.

En las discusiones trataremos de especular con los diversos fenóme-- nos fisiológicos apoyados en lo reportado por los autores consultados, para tratar de reportar en su justa apreciación los papeles, o posibles nexos que tienen las lectinas con la fisiología de vegetales superiores, -- por lo que aquí primero repasaremos en forma resumida algunos conocimientos sobre el tema.

1).-Localización de lectinas en células vegetales.

Al igual que sucede con otros temas, la localización de las lectinas- en las células vegetales es todavía enigmática, ya que hay muy poca literatura sobre ello y aquí sólo haremos algunos elucubraciones al respecto- para tratar de ubicarnos y comprender algo más sobre la relación de las- lectinas con la fisiología de los vegetales.

Una cuestión clave es preguntarse cuál es el receptor de la lectina - en su ambiente fisiológico. En una semilla nunca faltan compuestos gluco- conjugados:además de las reservas energéticas(polisacáridos puros como el almidón) y de las paredes celulares(celulosa), los azúcares se hallan-- fijados de manera estable a proteínas donde tales azúcares pueden contribuir a la acción enzimática o a la protección de la enzima contra tempe-- raturas extremas(49). Probablemente los azúcares también se encuentren -- unidos a lípidos y asimismo a hormonas vegetales almacenadas en forma inactiva (giberelinas, citocininas y auxinas):receptores potenciales para - las lectinas(18).

Las lectinas al ser extraídas en su forma más simple, se recuperan - en la fracción soluble, lo cual quiere decir que deben encontrarse en -- los compartimientos "acuosos" de las células de las semillas:en el citoplasma, en la pared celular o retenidas entre pared celulósica y membrana celular.

Más específicamente Thorne(50), al referirse a la anatomía de la cubierta del hilio de la semilla de soya, dice que la barrera traqueal(vista a través del microscopio electrónico de barrido) funciona como reservorio del agua en el período de desarrollo de la semilla de soya.

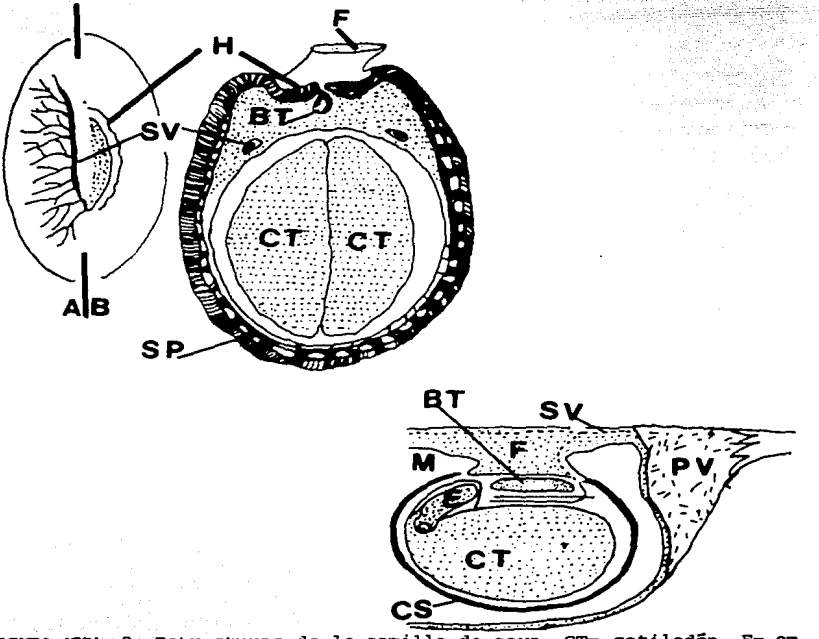


FIGURA NUM. 9.-Estructuras de la semilla de soya. CT= cotiledón, E= embrión, BT= barrera traqueal, F= funículo, CS= cutícula -

FIGURA NUM. 9(continuación).-de la semilla, PV= pared de la vaina, SV= sacos vasculares, SP= sacos pequeños, H= hilio (50).

Este mismo autor(50) describe que el saco embrionario consiste de una capa sencilla de túbulos multicelulares(figura número 10) midiendo cada uno de ellos de 50 μm x 200-350 μm, unidos a un extremo que forma una superficie ondulante frente a la cubierta de la semilla. En las semillas jóvenes los túbulos probablemente se proyecten dentro del endospermo donde quedan encerrados, pero al desrrollarse los cotiledones dichos-túbulos se extienden progresivamente.

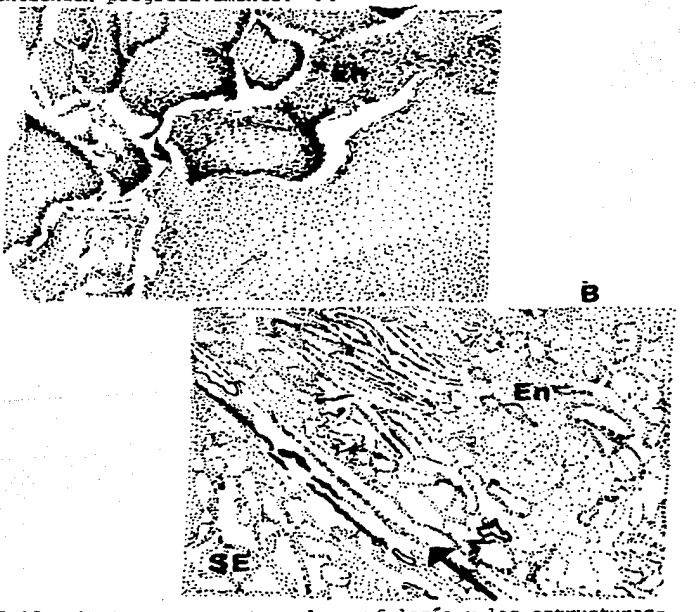


FIGURA NUMERO 10.-Dibujos que muestran la morfología y las estructuras-del endotelio de la semilla de soya(A y B de la pági-

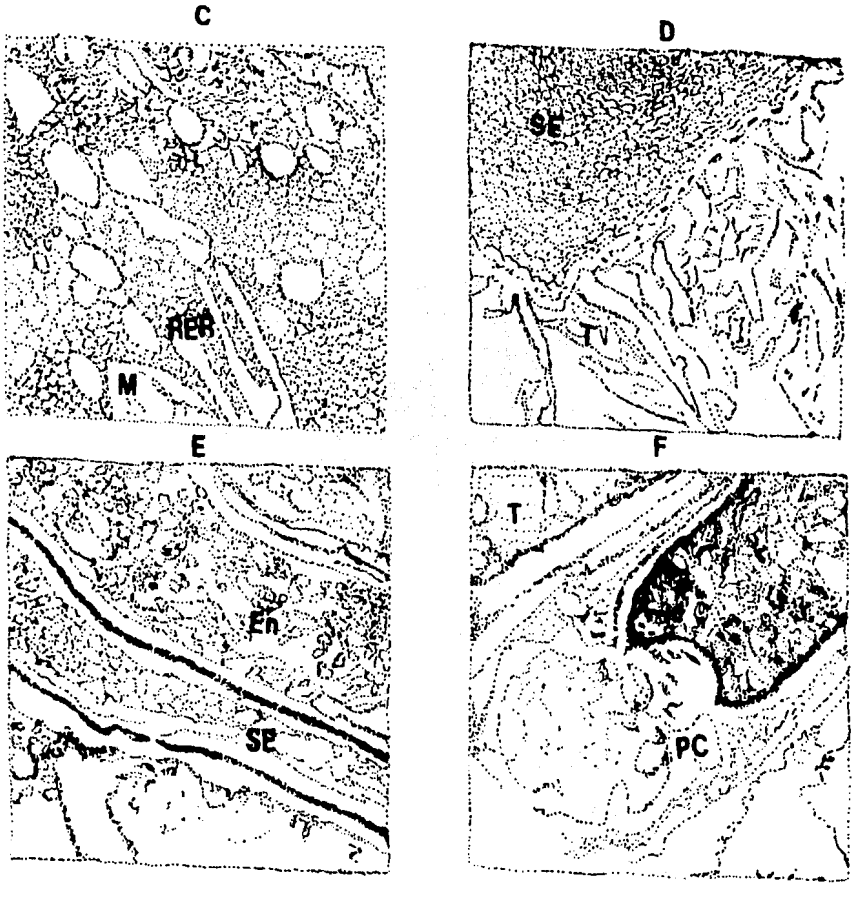

C
REB
M
D
SE
TV
E
SE
F
T
PC

FIGURA NUMERO 10.-(continuación)-na 32 así como C de la 33) y los túbulos del embrión(D, E y F de la página 33), como se observarían en el microscopio electrónico de barrido.PC= pared celular; SE= saco embrionario; En= endotelio; M= mitocondria; R= ribosomas; RER= retículo endoplasmático rugoso y T=túbulos(50).

Un cruzamiento final de la pared define la pequeña porción terminal de los túbulos, aunque el citoplasma de dicha región terminal está desprovista o contiene menos organelos; sin embargo, este citoplasma de la parte cercana al endotelio está a menudo enriquecida por constituyentes característicos de células involucradas en el transporte activo de carbohidratos(50). Al respecto es conveniente consultar también la referencia(51).

2).-Interacción lectina-membranas celulares.

En la página 27 del presente trabajo se describieron algunos aspectos de la unión de la CON A en las membranas del retículo endoplasmático, así como en los protoplastos de varias plantas, donde los enlaces entre la CON A y las membranas son específicos para residuos manosilo y glucosilo, asociándose con la superficie celular. En cambio los cloroplastos y los tonoplastos no se unen a la concanavalina A(46).

Los tilacoides son la unidad básica del aparato fotosintetizante, el cual es un saco membranoso. Los tilacoides atraviesan la matriz de los cloroplastos(denominada estroma). Existen muchas teorías sobre la estructura de la membrana tilacoidea; sin embargo, la que nos interesa es aquella que se refiere a los dos tipos de proteínas asociadas con su membrana la cual estaría formada por fosfolípidos y algunas glucoproteínas principalmente(52, 53 y 54; recomendándose además las referencias:55, 56, 57, 58 y 59). La unión de la CON A a membranas mitocondriales y nucleares no se han estudiado directamente. Pero Bowles y Kauss (60) comunican que -

ellos extrajeron proteínas de mitocondrias, membrana plasmática, aparato de Golgi y membranas de retículo endoplasmático aisladas de hipocótilos de frijol mung (Phaseolus aureus) estas proteínas aglutinan eritrocitos de conejo y son por tanto clasificadas como lectinas. Regresando a nuestra referencia (46), en ella se indica que la capacidad para unirse a las mitocondrias y al retículo endoplasmático es posible. Los sitios receptores se localizan en el interior de la superficie vesicular(lo que está de acuerdo con lo reportado por Bowles y Kauss) y no son accesibles a las lectinas bajo condiciones habituales. Los análisis de unión de la CON A con membranas del aparato de Golgi y con envoltura nuclear no fueron realizados(46).

3).-Comparación de unión entre tejidos maduro y meristemático.

Berkowitz y Travis(47) valoraron el grado en el cual los sitios de unión complementarios de la concanavalina A pueden reflejar el estado de desarrollo de la célula. Las membranas de las vesículas internas de la membrana plasmática correspondiente a tejido meristemático unen mayores cantidades de CON A que las vesículas maduras. En otras palabras, el tejido meristemático muestra mayor reactividad que el tejido maduro.

Las glucoproteínas son constituyentes importantes de las membranas celulares (61). Mediante estudios con eritrocitos humanos, linfocitos y virus se ha concluido que las glucoproteínas son moléculas anfipáticas, es decir,que existen en formas hidrofóbicas e hidrofílicas; las hidrófobas sujetan la capa lipídica ya que las glucoproteínas sólo pueden extraerse con solventes que rompen uniones hidrófobas y se clasifican como proteínas intrínsecas de la membrana.

Las unidades de carbohidratos están agrupadas cerca de un extremo-

de la molécula y su parte hidrofílica se encuentra hacia el lado externo de la membrana plasmática. Algunas de las glucoproteínas intrínsecas --- atraviesan toda la bicapa (cruzan la membrana) quedando asi expuestas a- los medios ambientes externo e interno (ver figura No.11).

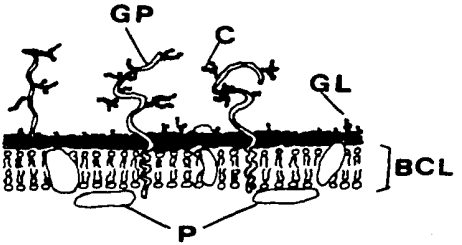


FIGURA NUM. 11.-Distribución de componentes que atraviesan la bicapa de- la membrana celular. (claves: GP= Glucoproteínas, C= Carbohidratos, GL= Glucolípidos, BCL= Bicapa lipídica y --- P= Proteínas).

Los segmentos internos de estas glucoproteínas intrínsecas (y proteínas) quizá estén asociadas con algunas de las proteínas localizadas en - la parte citoplásmica de la membrana. De esta manera las glucoproteínas- pueden ser un medio de comunicación para cruzar la bicapa, ya sea para - el transporte de solutos y agua o para la transmisión de señales en respuesta a un estímulo exterior, tales como de hormonas, anticuerpos o de- otras células (61).

4.-Localización de lectinas en estructuras celulares.

Además de Sharon y Lis(61), Berkowitz y Travis(46 y 47), Bowles y -- Kauss(60); más recientemente, Faye y colaboradores(62), Chrispeels y colaboradores(63) así como Sherman y Shannon(64) reportan con datos más actuales que la síntesis de lectinas a nivel de organelos celulares se realiza en retículo endoplasmático rugoso y que el transporte se efectúa -

a través del aparato de Golgi donde además se deposita, estando todos -- los datos de estos autores en concordancia. Asimismo es interesante ha-- cer notar que varias enzimas capaces de degradar glucoproteínas se sinte tizan en los mismos organelos celulares que las lectinas(64 y 65).

5).-Localización de lectinas en estructuras vegetales.

Sobre la localización de lectinas a nivel de diversas estructuras de plántulas y semillas; Gatehouse y colaboradores(35), Cammue y colaborado res(66), Harley y Beevers(67), Peumans y colaboradores (68), Kerr y co-- laboradores(69), así como James y colaboradores(70); reportan la existen tencia de lectinas y azúcares en: hojas, raíces, tallos, embriones, coti ledones, endospermo, etc., corroborándose los datos que previamente re-- portaron Howard y Jones (referencias 8 y 16, ver páginas 12 a 17).

6).-Expresión genética.

Sin entrar en detalles la expresión genética de un gen consiste en:

$$\text{DNA} \xrightarrow[\text{núcleo}]{\text{transcripción}} \text{RNAm} \xrightarrow[\text{citoplasma}]{\text{traducción}} \text{proteína} \longrightarrow \begin{cases} \text{estructural} \\ \text{funcional} \end{cases}$$

Los oligosacáridos de las glucoproteínas no son sintetizados con la- participación directa del DNA o del RNA; más aún, los oligosacáridos se- sintetizan por mediación de las enzimas glucosiltransferasas, las cuales son producto de genes primarios(61). Según el dogma central combinado -- con lo expuesto aquí:

$$\text{DNA} \longrightarrow \text{RNA} \longrightarrow \text{proteínas} = \underset{\text{(glucosiltrans-ferasas)}}{\text{enzimas}} \longrightarrow \text{glucoproteínas}$$

De esta manera es como probablemente se forman las lectinas(61).

Es compleja la serie de eventos entre la transcripción de un segmento de DNA(gen) en la formación de una molécula de RNAm y la producción - final de una proteína cuyo destino sea servir como parte estructural de un organelo o como una enzima activa, revelándose que hay muchos sitios potenciales de control de la expresión genética. En plantas superiores - han sido demostrados los mecanismos de control de la mencionada expre--- sión y a continuación se describen:

a).-Síntesis selectiva de RNAm nuevo o transcripción genética selectiva- (control transcripcional).

b).-Procesamiento y translocación de RNAm(control post-transcripcional).

c).-Síntesis de nuevas proteínas empleando RNAm ya existente(control traduccional).

d).-Activación de enzimas pre-existentes (control post-traduccional,71).

7).-Regulación genética de estructuras enzimáticas.

Se precisan por lo menos de 600 a 800 enzimas diferentes en una sola célula desarrollada que tenga como fuente de carbono única a la glucosa- (72). Estas enzimas requieren de un sistema genético regulador específico tal como el del operón lac donde interviene la β-galactosidasa (enzima que rompe la lactosa en glucosa y galactosa). Al suministrar lactosa- a Escherichia coli como fuente de carbono el número de moléculas de la - enzima aumenta hasta 3,000 por célula. Si en vez de lactosa se suminis-- tra glucosa, el número de moléculas de la β-galactosidasa disminuye de-- 3 a 7 por célula. Esto implica que moléculas como la lactosa inducen la síntesis de una enzima participante en su metabolismo. El fenómeno se -- llama inducción y las moléculas capaces de producirla se denominan inductores.

El caso contrario, es que existen enzimas o juegos de ellas, que sirven no para degradar una molécula, sino para su síntesis, como sucede -- por ejemplo con la histidina. En este caso la situación es al contrario; cuando las células se encuentran en presencia de histidina, dado que no- es necesario sintetizarla, se reprime ésta.

Jacob y Monod elaboraron una teoría que explica la represión y la inducción enzimáticas. Normalmente en las células hay un llamado gen regulador que siempre está funcionando y por medio de la transcripción y la- traducción da lugar a la síntesis de una molécula polipeptídica que recibe el nombre de represor. Se postularon dos tipos de genes: estructura-- les y reguladores (49, 73) que actúan a través de proteínas genéticamente controladas. Los genes estructurales determinan la estructura de los- polipéptidos controlando la secuencia de aminoácidos durante su síntesis (73), y se definen como genes que codifican para la estructura primaria (secuencia de aminoácidos) de la enzima(74). Los genes reguladores con-- trolan a los grupos de genes estructurales en una forma negativa, es decir, inhibiendo su actividad. Cada gene regulador funciona mediante un - sitio operador que tiene control inmediato sobre un grupo de genes es--- tructurales. El sitio operador es una pequeña sección de DNA transcrita- por el RNAm y complementaria de un represor. Los represores son molécu-- las proteícas que ayudan a decidir cuándo se han de hacer las moléculas- de RNAm que codifican para muchas enzimas represibles. Cada represor -- bloquea la síntesis de una o más proteínas y dichos represores son codificados al igual que todas las demás proteínas, por el DNA cromosómico.- Asociada al operador se encuentra otra pequeña secuencia del DNA, el promotor, con el cual se une la RNA polimerasa para iniciar la transcrip--- ción del operador. Un gene promotor también inicia la transcripción --

del gene regulador (38, 72, 73, 74). Los represores no siempre son capaces de evitar la síntesis de RNAm; si pudieran hacerlo, inhibirían de - forma permanente la síntesis de sus proteínas específicas. En vez de esto, todas las moléculas represoras pueden existir en forma activa o inactiva, lo cual depende de si están o no combinados con sus inductores- (correpresores) apropiados: el enlace de un inductor inactiva al represor.

Cuando en una célula de la hoja de una planta se está expresando -- cierta información (por desrrepresión o inducción) diferente a la de -- una célula de la raíz, otro tipo de información no se expresa (porque-- hay represión). Sin embargo este tipo de represión o de inducción, tiene una característica de permanencia mayor cuyo mecanismo está poco -- claro pero se piensa que las proteínas básicas, denominadas histonas-- que estando íntimamente asociadas con el DNA de las células eucariontes y que no existen en el DNA de los procariontes pudiendo estar implicadas en el proceso de diferenciación celular y morfogénesis.

En plantas superiores hay dos ejemplos bien documentados sobre la - transcripción selectiva de genes como un mecanismo de control de la información genética(que da lugar a la diferenciación):

a).-Uno de ellos es la síntesis de novo de la alfa-amilasa y otras hidrolasas en las células de la aleurona de semillas de cereales durante-- la germinación inducida por la giberelina.

b).-El otro es la estimulación de la síntesis de novo de la celulasa en epicótilos de chícharo inducida por 2,4-D (auxina sintética).

La evidencia para los otros niveles de control de la expresión genética en plantas superiores viene de estudios con semillas en germina--- ción. En el caso de control post-traduccional, las evidencias se deri--

van de investigaciones sobre actividades enzimáticas, las cuales aumentan durante la germinación y que son sensibles a inhibidores de la síntesis de RNA. Se ha sugerido que la síntesis de algunas enzimas que ocurre durante la germinación, dependen del RNAm ya existente en la semilla sin contenido de humedad y que es activado durante la traducción en la hidratación de la semilla.(49,71, 74 a 76).

8.-Fitohormonas.

Son muy importantes en la integración de las actividades del desarrollo y en la respuesta de las plantas al ambiente físico externo. El medio ambiente ejerce efectos inductivos-cambios en el metabolismo y la distribución de las fitohormonas- dentro de la planta. Las fitohormonas-(FH) son los agentes principales que regulan la expresión del potencial-genético intrínseco de las plantas.

Definiciones: a).-Una hormona vegetal es una sustancia orgánica diferente a un nutriente (carbohidrato, proteína, lípido, etc.)activa a muy bajas concentraciones(menos de 1 mM casi siempre menor a 1µM), que se forma en ciertas partes de la planta y que generalmente es translocada a otros sitios, en los que provoca respuestas bioquímicas, fisiológicas y/o morfológicas. Las FH son activas tanto en los tejidos donde se producen como en tejidos distantes.

b).-Reguladores del crecimiento vegetal.-Es un compuesto orgánico(diferente de un nutriente), el cual en bajas concentraciones(menos de 1mM) promueve, inhibe o modifica cualitativamente el crecimiento y desarrollo. Existen cientos de compuestos sintéticos que se clasifican como reguladores del crecimiento pero que no son fitohormonas(49, 75 y 76).

A.-Auxinas. El ácido indolacético(AIA) es considerado como la veradera--

auxina y es sustancia de plantas que causa muchas respuestas fisiológicas (49). El término auxina se deriva del griego "auxein" que significa"para-crecer". Darwin(más conocido por su teoría de la evolución) descubrió estas hormonas y realizó experimentos sobre fototropismo y geotropismo. Concluyó que"las plantas al exponerse libremente a una luz lateral, se transmite alguna influencia de la parte superior a la inferior, dando como resultado que la última se curve". A Fritz Went se le adjudica el descubrimiento definitivo de las auxinas.

De la orina humana se aisló la primer sustancia con actividad de auxina. Se determinó que la heteroauxina era idéntica al AIA. La hormona se ha aislado de hongos y plantas con semillas y al parecer es la única auxina presente en plantas superiores. Además de las auxinas de origen natural se han sintetizado una gran variedad de sustancias con acción fisiológica similar a la del AIA. Tales auxinas sintéticas se incluyen dentro de cinco grupos(ver cuadro número 4).

Algunas auxinas sintéticas se emplean como herbicidas el 2,4-D;2,4,-5-T y el MCPA son muy activas debido a que la enzima AIA oxidasa destruye muy lentamente a las auxinas sintéticas persistiendo mucho más tiempo en la planta que el AIA. Ciertos compuestos fenólicos influencian los niveles de AIA a través de su efecto sobre la AIA oxidasa. Los ácidos ferúlico, p-coumárico y el flavonoide kampferol(monofenoles de un sólo grupo -OH) actúan como coenzimas de la AIA oxidasa in vitro. Los O-difenoles como los ácidos cafeico y clorogénico, así como el flavonoide quercetina inhiben la AIA oxidasa y ocasionalmente estimulan el crecimiento de varias partes de la planta. Estos compuestos mencionados existen normalmente en las vacuolas y son de poca influencia sobre los procesos citoplasmáticos(49, 75, 76 y 77).

GRUPO	NOMBRE DEL COMPUESTO	NOMBRE DEL COMPUESTO	GRUPO
I.-Acidos indólicos.	a).-ácido indol-propiónico b).-ácido indol-butírico	a).-ácido nafta-lênico b).-ácido-β-naf-talénico	II.-Acidos naftalénicos
III.-Acidos clorofe-nóxicos(herbicidas - de larga duración).	a).-ácido 2,4 di clorofenoxiacéti co (2,4-D) b).-ácido 2,4,5-triclorofenoxi--acético(2,4,5-T) c).-2metil-4-clo ro fenoxiacético (MCPA).	a).-ácido 2,4,6-tricloro benzoico b).-ácido 2,3,6-tricloro benzoico c).-ácido-2-metoxi-3,6-dicloro benzoi-co(DICAMBA, poderoso herbicida contra especies perennes y de raíces profundas como Convul--vulus arvensis y Cirsum arven-se).	IV.-Acidos benzoicos
V.-Acido picolíni-co.	a).-ácido-4-amino-3,5,6 tricloro pi-colínico(tordon, -picloram).		

Cuadro Núm. 4.-Auxinas sintéticas.

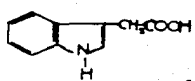
i).-Síntesis y degradación de AIA. El triptofano es el precursor para formar el ácido indol acético y se conocen dos caminos para la biosíntesis--y al parecer en algunas plantas se llevan a cabo uno u otro con exclusión. En otras plantas ambos caminos pueden operar e involucran la remoción de-grupos amino y carboxilo terminales de la cadena de tres átomos de carbono unida al anillo pirrólico en posición del C-3 del grupo indol(ver fi--gura número 12).

Las enzimas necesarias para la conversión de triptofano a ácido indol acético (ver ciclo núm. 1)son activas en tejidos jóvenes y en desarrollo, tales como los meristemos de hojas y frutos. En estos tejidos el contenido de auxina es alto, sugiriéndose que son los sitios de síntesis.

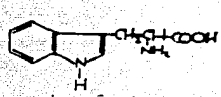
El contenido de triptofano en plantas superiores es muy bajo(por esta razón las proteínas de las plantas son de baja calidad).

ii).-Transporte de auxinas.-Se transportan desde las hojas jóvenes y áreas meristemáticas de los tejidos en formación hasta los coleoptilos no

meristémicos. En contraste con azúcares, iones, etc.; el AIA no es translocado a través del floema. Se piensa que tanto el tejido parenquimatoso- como el vascular transportan las auxinas. Se menciona que el movimiento-- se realiza disminuyendo en las partes viejas de los tallos, coleoptilos y peciolos (49 y 78).



Acido indol acético



Triptofano

FIGURA NUM. 12.-Estructuras del ácido indolacético y el triptofano.

iii).-Localización. Los centros de síntesis de auxinas son las puntas de- tallos y raíces así como hojas jóvenes, sintetizándose en flores, frutos y semillas siendo esta fitohormona activa en las partes de mayor actividad- metabólica (meristemos, hojas en expansión y frutos). Según Bleschschmidt (79) del endospermo y embrión de las semillas de cucurbita se detectaron- más de 30 compuestos citándose entre los principales el AIA.

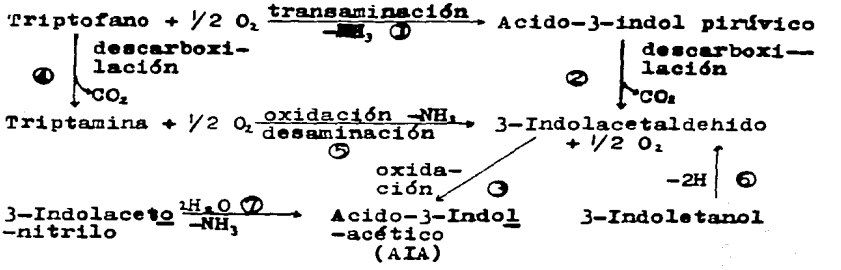
iv).-Efectos fisiológicos:

a).-Sobre los tallos. El efecto del AIA sobre el alargamiento de los ta-- llos está bien comprobado, así como la orientación de los coleoptilos hacia la luz (fototropismo).

b).-Sobre flores y hojas. Hay pocas evidencias sobre de que las auxinas-- sean fundamentales para el desarrollo de flores y hojas.

c).-Sobre raíces. El AIA existe en la raíz a concentración similar a las- de otras partes de la planta (0.1 a 1 μM). Estimula la elongación de raí-- ces pero sólo a muy bajas concentraciones (10^{-4}, 10^{-7} o 10^{-9} M). A concentraciones altas hay inhibición del alargamiento pues las raíces contienen casi la suficiente auxina para ello y el suministro exógeno-in vitro-frecuentemente causa inhibición. Parte de esta inhibición es causada por el --

etileno debido a que las auxinas de todos los tipos estimulan muchas clases de células para producir este gas, especialmente al agregar altas cantidades de auxina.

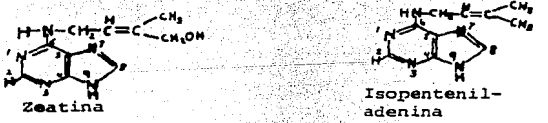


Ciclo NUM.1.- Biosíntesis de auxinas. Enzimas: ① Triptofano transaminasa; ② Indol piruvato descarboxilasa; ③ Indol acetaldehído deshidrogenasa; ④ Triptofano descarboxilasa; ⑤ Amino oxidasa; ⑥ Indol etanol oxidasa y ⑦ Nitrilasa.

d).-Mecanismos de acción. Es sorprendente que sean tan pequeñas las cantidades de hormona requeridas para causar efectos tan marcados, y puede esperarse que existan una molécula de AIA contra un billón de las del--- agua y que esta sola molécula pueda afectar a cientos de millones de --- otras moléculas, así entonces se tiene una tremenda amplificación.

Existen dos conceptos acerca del mecanismo de acción de las auxinas: 1) el sitio de acción es la pared celular y 2) es a nivel del metabolismo de ácidos nucléicos (RNAm, r y t). Muchos fenómenos de elasticidad de pared se relacionan al efectuar tratamientos con auxinas y son independientes de las actividades nucleares, aunque el aumento en la síntesis - de RNA también se asocia con respuestas de crecimiento ante dicha hormona (25, 49,66, 67, 70, 77, 78, 79, 80).

B).-Citocininas. En los años veintes Haberlandt de Austria descubrió la-- citocinina(6-furfuril amino purina: $C_{10}H_9N_5O$). En 1954 se aisló la citocinina de esperma del pez arenque y se demostró que estimula la citocinesis. Se encontró que promueve la mitosis y la división celular en callos de -- tabaco (cultivo de tejidos in vitro). Los callos son masas de células no-especializadas que han sido cortadas de la base y en la zona del corte se forma el callo que desarrolla raíz y luego tallo, las auxinas son las promotoras de esta actividad. La cinetina no está presente en plantas. FC -- Steward extrajo varias citocininas presentes en el agua del coco, así como de unas 40 especies de plantas superiores y que estimulan la división-celular en tejidos de raíz de zanahoria. Letham(1974), Staden y Drewes -- (1975) encontraron que la zeatina y el ribósido de zeatina eran muy activas. La primera de estas sustancias se aisló del endospermo de semillas - de maíz. Se puede asumir que las citocininas se encuentran en todas las - plantas con semillas y posiblemente en todo el reino vegetal habiéndose-- reportado que aparecen en numerosos animales y microorganismos,específica mente en el RNAt, por lo que es probable exista en todos los organismos-- vivos.



Zeatina

Isopentenil-adenina

FIGURA NUM. 13.-Estructuras de la zeatina y la isopentenil adenina o 6---
-(∂', ∂'-dimetil-alil)-aminopurina.

Una media docena de citocininas libres son derivadas de la adenina teniendo una cadena en la posición del N_6 lo que ha sido identificado en -- las angiospermas (plantas productoras de semillas y que poseen flor),las-- citocininas han sido identificadas solamente en unas cuantas gimnospermas: que producen semillas desnudas; sin ovario, en musgos y helechos pero pro

bablemente estén presentes en todas las plantas tanto en forma libre como de RNAt. Las citocininas son purinas compuestas por pirimidina unido al imidazol, es decir, son adeninas substituidas en los nitrógenos 6, 7 o 9 generalmente por cadenas de 5 átomos de carbono(una excepción lo es la-bencil adenina).

En la rafantina (glucosil zeatina), encontrada en el rábano(Raphanus-sativus) el carbono 1 de la glucosa está directamente unido al átomo de-N de posición 7 del anillo purínico de la zeatina. La rafantina es lentamente sintetizada en la raíz del rábano. En otras especies la glucosa está unida al nitrógeno en posición 9. De estos derivados substituidos no hay seguridad que sirvan sólo para el almacén porque todos son activos por sí mismos (49, 75, 76, 80 a 83).

Las citocininas abundan en frutos, semillas, hojas jóvenes y puntas de raíz siendo transportadas-a través del xilema- desde esos sitios. Es evidente por sus características se sinteticen en tejidos meristemáticos o en lugares que aún presenten potenciales de crecimiento. En los brotes-para que estos se unan con los tejidos vasculares principales, las citocininas promueven la diferenciación de esos tejidos (pues inhiben la producción de etileno, 84). En yemas, hojas, tallos y callos se promueve la citocinesis y se estimula su desarrollo al haber altos niveles de citocininas y auxinas(85).

a).-Efectos fisiológicos.

i).-Existe interacción cualitativa entre auxinas y citocininas en el control de la formación de raíces y brotes de tejido del tabaco(Nicotiana tabacum). Se demostró que con una adecuada combinación de concentraciones de AIA y citocininas, los tejidos del tabaco crecen como un callo indiferenciado, y variando las cantidades de las dos hormonas se puede contro-

lar la morfogénesis. Estas investigaciones pueden servir para comprender-tanto el crecimiento normal como anormal en plantas.

ii).-Retardamiento del envejecimiento. Al cortar una hoja madura pero aún con actividad metabólica pierde clorofila, RNA, proteínas, lípidos y la - membrana de los cloroplastos. Al ser guardadas en la obscuridad ocurre envejecimiento prematuro y amarilleamiento de las hojas. Se observó que de-la raíz se provee una sustancia que mantiene las hojas fisiológicamente-- jóvenes. Esta sustancia-al menos en parte-contiene citocinina transportada por el xilema, y además retarda la vejez de las raíces e impide la pérdida de clorofila.

El proceso de envejecimiento que acompaña al deterioro y conduce a la muerte de un órgano u organismo es llamado senectud(Beevers, 1976). El -- efecto principal es que retardan la senectud evitando el rompimiento del-RNA y proteínas, en parte debido a la inhibición de ribonucleasas y pro-- teasas. Esto se ha probado en hojas de angiospermas, donde las giberelinas son sólo efectivas en algunas especies. Para prevenir la senectud de-la hoja las citocininas hacen que el nivel de proteínas permanezca más -- alto, además inhiben el rompimiento de proteínas más que el aumento de su síntesis y también mantiene la integridad de las membranas celulares.- En el girasol (Heliantus annus), el contenido de citocininas se incrementa durante el desarrollo y baja mucho al detenerse el crecimiento y comenzar la floración. Se ha demostrado que las hojas jóvenes atraen nutrientes de las hojas viejas estando las citocininas involucradas en el transporte de nutrientes. Una hipótesis interesante es que las citocininas en-las estructuras reproductivas pueden estimular el movimiento de azúcares, aminoácidos y otros solutos de hojas maduras y llevarlos a semillas, flores y frutos.

La capacidad de las citocininas para retardar la senectud también se-

aplica a ciertas flores y vegetales frescos. En los pétalos de las rosas, la concentración baja al envejecer pero al aplicar la fitohormona el proceso de envejecimiento se hace lento. Sin embargo, en flores ya cortadas y tratadas con citocinina no se produce ningún efecto habiéndose encontrado que ello se debe al etileno producido por las flores (86, 87).

iii).-Expansión de cotiledones y hojas. En algunas semillas dicotiledóneas las citocininas promueven la expansión de hojas y cotiledones. Si estos últimos órganos mencionados, son cortados e incubados con la hormona el crecimiento aumenta en relación a los controles sin hormona. Esto ha sido probado en especies tales como rábano, lechuga, girasol, pepino, etc.

La zeatina promueve el alargamiento del cotiledón de rábano tanto en ausencia como en presencia de luz, lo que también ilustra que la luz permite la fotosíntesis y el efecto es morfogenético y controlado por fitocromos. Las auxinas no estimulan el crecimiento de los cotiledones, y las giberelinas ejercen poco efecto al ser estos órganos cultivados en agua.- En cambio empleando bencil-adenina los volúmenes celulares se incrementan hasta cinco veces más que sin la hormona(88).

iv).-Desarrollo de cloroplastos. Al agregar citocinina a un callo en formación se observa que se desarrollan los cloroplastos. El tejido puesto en lugar obscuro y carente de clorofila, sin granas, ni citocinina sólo desarrolla pocas láminas del estroma. La adición de citocininas y con luz estimula la síntesis de estromas lamelares y aparecen las demás substancias y estructuras. Sin citocinina-y con luz-el desarrollo de granas y estroma lamelar es mínimo existiendo además poca clorofila.

v).-Efecto sobre la germinación. Las citocininas estimulan la germinación de semillas tales como las de lechuga así como las de otros cultivos. El hinchamiento de los cotiledones refuerza la radícula cuya salida está restringida por la cubierta de la semilla o las barreras del endospermo que-

acompañan al acto de la germinación(86, 88 y 89).

b).-Metabolismo. Se sabe poco acerca de la biosíntesis de citocininas,-- excepto por la parte adenina de la molécula. La adenina es formada de la glicina, CO_2 y otras moléculas pequeñas, la cadena fundamental para la - actividad y que está unida al N_6 (ver figura 13) es sintetizada por el-- mecanismo de la vía pirofosfato de isopentenilo(obsérvese el ciclo 2).

La mayoría de las moléculas de citocinina poseen 5 átomos de carbono unidos al nitrógeno 6; sin embargo, Lethman en 1973 encontró citocininas en el endospermo de maíz las que poseen 3 y 4 átomos de carbono en la cadena. Al remover la citada cadena dejando sola a la adenina, la fitohormona se inactiva.

c).-Mecanismo de acción. Al parecer para que las citocininas produzcan - sus efectos fisiológicos deben estar presentes las auxinas. En ausencia- de citocininas la síntesis de DNA continúa(con presencia de auxina)pero- las células no se dividen. Las citocininas son requeridas para la pro--- ducción de proteínas necesarias para la división celular, lo que se efectúa después de la replicación completa del DNA y antes de que realmente- empiece la mitosis. Las citocininas se unen débilmente a los ribosomas,- sitios de síntesis de proteínas, el sitio de unión es realmente una proteína que se une al ribosoma.

d).-Efectos sobre el crecimiento de las plantas. En plántulas de soya -- sin raíz (porque se les ha cortado) el alargamiento del hipocotilo unido al tallo se restaura con GA_3 (ácido giberélico tipo 3) en 24 horas, al - agregar citocinina sintética ambas hormonas se absorben y la división celular ocurre. El efecto principal de las citocininas es promover la división celular y el del GA(ácido giberélico) es incrementar el alargamiento de células en crecimiento, pero además son necesarias y limitantes -- otras substancias. También las citocininas se requieren para el crecimiento normal del tejido en formación y aunque el alargamiento de tallos y

raíces es promovido por esta fitohormona, las citocininas pueden ser inhibidores potentes en ciertas secciones ya que la cinetina, zeatina y -- bencil-adenina son potentes inhibidores del alargamiento estimulado por la auxina en ciertas secciones de los hipocotilos de soya tal y como lo son la actinomicina D y la cicloheximida. El etileno causa incremento en el peso de las estructuras de tallos y raíces, y las citocininas también provocan esa respuesta probablemente-porque al igual que las auxinas en-exceso-estimulan la producción de etileno(84).

Las citocininas están presentes a concentraciones muy bajas en los-- vegetales(0.01 a 1μM) y es de suponer que esta hormona provoque algún -- efecto sobre el RNA y la síntesis de enzimas ya que después del tratamiento con citocininas se incrementa la actividad enzimática, incluyendo-- las enzimas fotosintéticas características de plastidios bién desarrollados. Las citocininas en hipocotilos de soya incrementan la cantidad de - azúcares presentes(experimentos realizados con zeatina). Los azúcares -- (glucosa,fructosa, etc.) pueden ser responsables del incremento en, la - producción de solutos y del aumento del endurecimiento de la pared celular. Se presume que las citocininas promueven el crecimiento porque incrementan el número de moléculas de azúcar en las células y estos carbohidratos probablemente eleven las reservas de grasa porque se detectó que-los oleosomas son abundantes y los granos de almidón están muy esparci-- dos.

Se mencionó en la página 50 que las citocininas se unen débilmente-- a los ribosomas, posteriormente se determinó que existen uniones fuertes entre citocininas y proteínas ribosomales especulándose que si el crecimiento y desarrollo depende de las enzimas, la respuesta puede depender-de la naturaleza de los receptores protéicos ribosomales en las células-(25, 49, 75,76, 81 a 89).

C.-Giberelinas. Fueron descubiertas en Japón en 1890. El hongo Giberella fujikuroi(en estado sexual Fusarium moniliforme)causa la enfermedad llamada de las -- "plántulas tontas" de la cual Kurosawa(1926) demostró que el causante era un -- compuesto químico que Yabuta y Hayashi aislaron y denominaron giberelina. Hasta 1977(Parish y Kuo)habían reportado la existencia de 50 giberelinas. Todas son - ácidos de 19 a 20 carbonos agrupados en 4 o 5 sistemas en anillo y con 1 a 3 -- grupos carboxilo, se abrevian GA y se denominan GA_1, GA_2, GA_3, etc. A todas se- les denomina giberelinas pero GA_3 es la más estudiada. Cada tipo de GA presenta especificidad en cuanto a sus propiedades de promover el crecimiento entre diferentes especies de plantas, tejidos y aun estadios de la planta misma.

Las giberelinas se definen como compuestos que estimulan la división celu-- lar, la elongación celular o ambas. Se encuentran en forma natural en los estados químicos siguientes: a).-Como GA libres(fisiológicamente activas) y b).-conjugadas(para reserva o formas de transporte). Existen en angiospermas, gimnos-- permas, algas, hongos y helechos aparentemente no existen en bacterias sólo en- plantas vasculares. Las semillas de dicotiledóneas y sobre todo de frijol son - buenas fuentes de giberelinas. Estimulan el crecimiento de plantas intactas e - incrementan el alargamiento de tallos en forma mas continuada que por secciones cortadas, así sus efectos son distintos al de las auxinas.Las plantas mono y dicotiledóneas crecen más rápido al ser tratadas con hormonas, aplicando GA_3 a -- col y rosas estas crecen más rápido mientras que las plantas sin tratar permanecen cortas y vegetativas. Variedades de frijol, mutantes de arroz, maíz, melón,pepino,chícharo y calabaza muestran características de altura mayor-al ser-- tratadas con GA_3- que las plantas no tratadas.

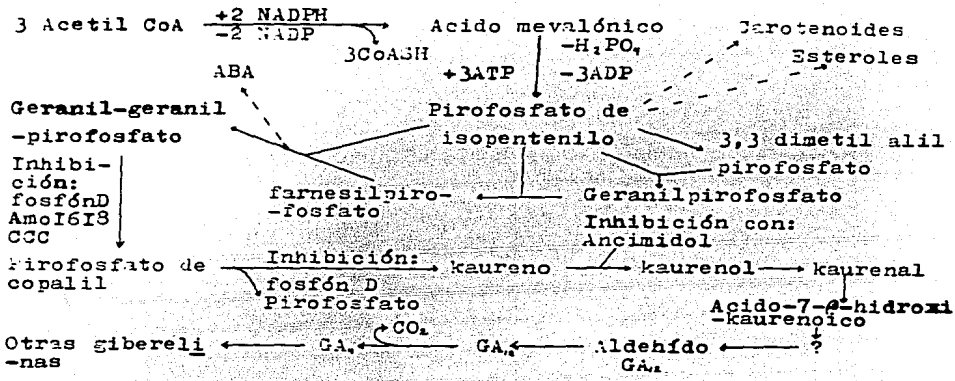
Las plantas enanas son capaces de responder al tratamiento con las FH pe--

ro no todas son deficientes en giberelinas, también pueden tener bajos -- contenidos de auxina, y ser incapaces de responder a ambas hormonas. Las- pináceas es poco o no responden a la aplicación de GA, posiblemente por-- que ya las contienen en cantidades suficientes.

a).-Metabolismo. En frutos y semillas(sobre todo inmaduras) la concentración de giberelinas es mayor, por ello es que las investigaciones sobre-- el metabolismo se realizan con semillas jóvenes. Las GA son compuestos -- isoprenoides, diterpenos sintetizados a partir del acetato de acetil-CoA- por vía del ácido mevalónico hasta pirofosfato de isopentenilo(desde el - cual también pueden sintetizarse el ácido abscísico, carotenoides, estero les o las giberelinas; siendo las primeras reacciones idénticas pues to-- dos estos compuestos se derivan de las 4 moléculas de pirofosfato de iso- pentenilo). En las membranas del retículo endoplasmático se efectúan al-- gunos pasos de la conversión de geranil-geranil pirofosfato(de 20 carbo-- nos)a kaureno. En las hojas los cloroplastos son sitios de mayor inter--- conversión de giberelinas, aunque las reacciones de la vía del ácido kau- renoico es probable ocurran fuera de los plástidos. Las reacciones de me- valonato a kaureno se catalizan por enzimas cuya acción depende del ATP y del Mg^{2+}, aunque en semillas inmaduras y puntas de plántulas de chícharo- el Mn^{2+} es más efectivo. El metabolismo posterior del kaureno son reacciones oxidativas catalizadas por oxidasas y dependientes de O_2 y NADH.(La- biosíntesis termina con el GA_{12} y esta origina los demás tipos que se en- cuentran en forma natural).

En giberelinas unidas a glucósidos, la glucosa está unida mediante -- una unión éter a los grupos -OH de la GA, o por enlace éster al carboxilo de la fitohormona. La conversión de GA muy activas en otras menos activas por ejemplo, la GA_4 es mucho menos activa que la GA_{34} por simple adición de un grupo -OH más. La síntesis de GA se inicia-al parecer- durante el -

crecimiento de la semilla al estar en germinación, liberándose las hormonas(GA libres) mediante algún mecanismo externo(v.g. fitocromo).



CICLO NUM. 2.-Biosíntesis de giberelinas a partir de tres moléculas de-acetil-Co A. Las flechas discontinuas indican que a partir del pirofosfato de isopentenilo se pueden seguir las-vías para el ABA, carotenoides o esteroles(o para GA co--rrespondiente al ciclo presentado en esta figura).

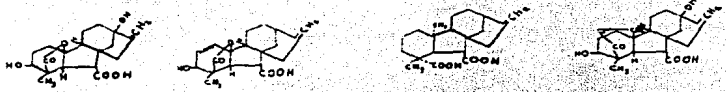


FIGURA NUM.14.-Estructuras de las giberelinas 1, 7, 12 y 38 respectiva--mente.

b).-Transporte y sitio de síntesis de giberelinas. Posiblemente-por la - adición de glucósidos las GA se inactivan en las células. Las hojas jóvenes son los sitios de síntesis de esta hormona, en cambio las maduras -- son poco capaces de sintetizarla. Las raíces sí la fabrican en cantida--

des significativas, pero tienen poco efecto sobre el crecimiento de es-- tas últimas estructuras e incluso inhiben la formación de raíces adventi- cias y se detectan en el exudado xilémico de raíces y tallos, y probable- mente estimulen: embriones, frutos y semillas. Además de sintetizarse en - meristemos, semillas, hojas jóvenes y puntas de raíces; se ha observado - en semillas de chícharo, que los únicos sitios de síntesis son los coti-- ledones, y en semillas que están germinando las GA se producen en la zona más externa del embrión (escudete) en los primeros días del proceso ger-- minativo, al tercer día cesa la actividad en este tejido y el que empieza a producir giberelinas es el eje embrionario. Se ha reportado que el tran sporte de giberelinas-probablemente- sea realizado a través de todos los- sistemas vasculares llevándose a cabo en forma pasiva junto con agua, sa- les y otros compuestos orgánicos.

c).-Germinación de semillas dormantes. Las semillas presentan dormancia-- cuando no desprenden la cutícula y por lo tanto no brotan al ser expues-- tas a humedad adecuada, temperatura y oxígeno. La dormancia se rompe en-- invierno con clima frío y los brotes ocurren en primavera. Las GA-en mu-- chas especies-actúan como substitutos de las temperaturas bajas, incremen tan el alargamiento celular de manera que la radícula empuja al endosper- mo y la cutícula.

d).-Mecanismo de acción. El efecto del incremento de la longitud del ta-- llo resulta de al menos tres eventos:

i).-Estimulación de la división celular en el ápice del tejido en forma-- ción, especialmente en las células meristemáticas de las cuales se desa-- rrollan las células de la corteza y medulares.

ii).-Las GA estimulan el crecimiento celular porque incrementan la hidró- lisis de almidón, fructosanas y sacarosa.

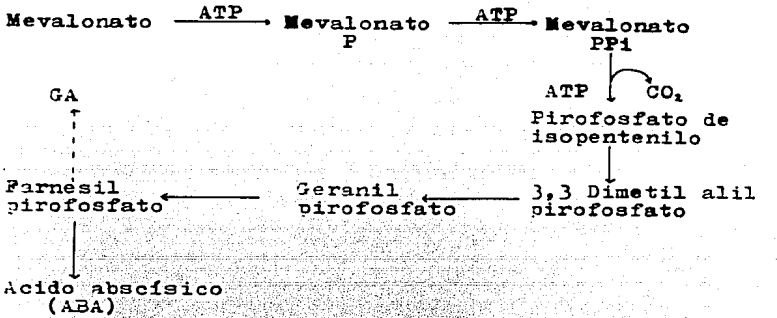
iii).-Al emplear GA_3-en avena-aumenta la longitud de sus estructuras hasta 15 veces en relación a testigos sin tratar.Las sales minerales y la sacarosa proveen energía previniendo la dilución excesiva del contenido celular ocurriendo un incremento de la plasticidad de la membrana y las paredes lo cual explica aparentemente, el crecimiento de hipocotilos de lechuga promovidos por la GA. Estas hormonas se especifica que promueven el crecimiento total de la planta incluyendo raíces y hojas.(25, 49, 75, 76, 79, 90, 91 y 92).

Hasta aquí se ha escrito sobre tres hormonas que de una u otra forma-inducen el crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales. Pero debe--tenerse muy presente que las plantas no pueden crecer indefinidamente y - que en determinado momento deben disminuir o detener ese crecimiento, por lo que existen hormonas que inhiben el crecimiento y son de las que haremos referencias a continuación.

D).-Acido abscísico. Wareing y colaboradores (1965) en país de Gales in--vestigaron la dormancia de las yemas que no brotan de Acer pseudoplatanus (maple sicomoro). Addicott y colaboradores, en California estudiaron que-compuestos eran responsables de la caída (abscisión) de los frutos del algodón. Se pensó que el ácido abscísico(ABA) era responsable de la caída - de las hojas(y frutos) y que-por otro lado-provocaba la latencia de los - brotes de los tallos leñosos. De aquí se deriva injustamente su nombre ya que en realidad no es responsable de la abscisión de hojas,flores y frutos teniendo un papel mucho más importante como causa de la dormancia de-yemas y semillas.

a).-Metabolismo. El ABA es un sesquiterpeno de 15 átomos de carbono(ver - figura 15) sintetizado del pirofosfato de farnesilo vía del pirofosfato - de isopentenilo, siendo las primeras reacciones idénticas a las del GA, - carotenoides y esteroles(véase el ciclo número 2 de la página 54).

Los mecanismos de degradación completa del ABA no han sido estudia-- dos, pero pueden removerse de las células al convertirse en 3 derivados- inactivos: ácidos dihidrofaseico y faseico (productos de oxidación) y un ester glucosil-abscísico.



CICLO NUM. 3.-Biosíntesis del ABA a partir del mevalonato.

b).-Síntesis. Los cloroplastos de hojas, tallos y frutos verdes son sitios de síntesis. En el endospermo y raíces de trigo también se sintetiza el ABA. Este ácido acumula el agua en las raíces que carecen de ella permitiendo su entrada a las últimas estructuras mencionadas. Asimismo- se ha reportado que protege a las hojas contra la desecación.

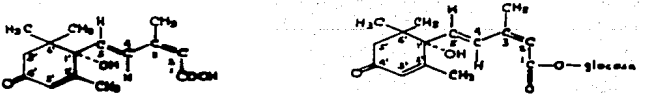


FIGURA NUM. 15.-Acido abscísico y ester glucosil-abscísico.

c).-Transporte. Se efectúa tanto a través del xilema como del floema y- posiblemente en sacos vasculares.

d).-Efectos fisiológicos. El ABA inhibe el desarrollo tanto de hojas como de yemas provocando el cese del alargamiento y confiriendo estímulo-

para la dormancia. La dormancia es la reducción de la actividad metabólica de la semilla debido a condiciones internas(pérdida de agua celular en el-embrión, pérdida de membrana) y externas(temperatura, clima, suelo, humedad, aereación, luz, etc.), que afectan la actividad fisiológica.

En semillas el ABA debe ser un inhibidor potente de la germinación, -- puesto que muchas semillas con dormancia contienen ABA. Al exponer-en algunas especies de semillas-a bajas temperaturas (2-10°C) el contenido de ABA-se reduce y se rompe la dormancia, pero hay especies en que esto no sucede.

El ABA tiene tres efectos fisiológicos principales:

i).-Efecto sobre la membrana plasmática. En raíz de cebada la membrana es-cargada positivamente por el ABA con lo cual las puntas de la raíz se se-paran permitiendo la penetración de cargas negativas de superficie. Esto-puede estar también involucrado con la capacidad del abscísico para inhibir el crecimiento inducido por la auxina.

ii).-Inhibición de la síntesis de RNA.

iii).-Inhibición de la síntesis de proteínas. La interferencia en la síntesis de RNA, proteínas y enzimas puede explicar muchos de los efectos sobre el crecimiento y desarrollo, sólo que se desconoce el mecanismo sobre-ambos efectos.

El etileno y el ABA estimulan la senectud, el gas tiene como efecto -- el causar la madurez rápida de vegetales, seguida por abscisión, en flores se produce marchitamiento con pérdida de nutrientes y desecación, en hojas se tiene pérdida de clorofila, RNA, proteínas y se produce abscisión. Se-determinó, por el contrario, que el ABA incrementa en los cotiledones de -soya la concentración de beta-conglicininas, mientras que en las unidades-α y α' no se han detectado modificaciones. Se reportó que las unidades α-α' son las que aparecen primero y luego las β.

iv).-Regulación estomática. Al exponer las hojas de las plantas superiores

a carencia de minerales, sequía, exceso de agua, etc., el ABA incrementa la resistencia a tales condiciones (también al frío, 93). Así la concentración del ABA puede incrementarse hasta 10 veces, y si la planta se vuelve a colocar en condiciones normales, la fitohormona disminuye con rapidez. Cuando existe deficiencia de agua las células guarda se hacen fláccidas y los estomas se cierran para restringir las pérdidas del líquido. Se encontró que el ABA de las plantas mesofitas-en condiciones adversas de sequía-inicia el cierre estomático por lo que el ABA está involucrado en la regulación estomática de la abertura observándose en hojas de frijol soya que los niveles de ABA aumentan rápidamente cuando el potencial hídrico va de -7 a -9 bar. Se-ha descrito que al parecer el potencial de presión es responsable de la --- acumulación del abscísico ya que al disminuir un bar provoca el incremento-de la concentración del ácido.

El ABA se sintetiza y localiza en los cloroplastos y sale a través de la membrana de este organelo (al haber déficit de agua), el ácido puede inhibir su síntesis por un mecanismo de retroalimentación liberándose el sistema enzimático responsable de su síntesis y por inhibición de producto final se detiene su producción.

A concentración de 10^{-6}M el ABA causa el cierre estomatal siendo este-- mecanismo de una importancia inusitada de tal forma que Klaus Raschke(1976) refiriéndose al aparato estomático escribió lo siguiente:"...los estómatas-delegan la tarea de proveer alimento mientras previenen la sed".

e).-Mecanismo de acción. Se desconoce el mecanismo de acción molecular del-ABA, pero dos casos si están documentados:el de la alteración de las membranas plasmáticas que se manifiesta con cambio en potenciales bioeléctricos - con salida de K^+, y el otro es el mecanismo de la inhibición de la síntesis de RNA y proteínas(como represor de genes). El ABA se opone a muchos efec--

tos de las auxinas, citocininas y el giberélico (49, 79, 80 y 92 a 99).

E).-Etileno. Se observó que una manzana madura en un barril de dichas frutas provoca la maduración de todo el lote. El fruto maduro produce un gas volátil, etileno, que afecta a las manzanas sanas lo que conduce a su maduración y producen a su vez más etileno dándose una reacción en cadena pues el gas difunde ampliamente. En 1864 en algunas ciudades alemanas se alumbraban con lámparas de gas, en ocasiones el gas se escapaba causando la caída de las hojas de los árboles. Gane probó en 1934 que el etileno es la causa de la madurez y es sintetizado por las plantas. Neljubow (fisiólogo ruso 1876-1926) estableció por vez primera los efectos del etileno en vegetales superiores.

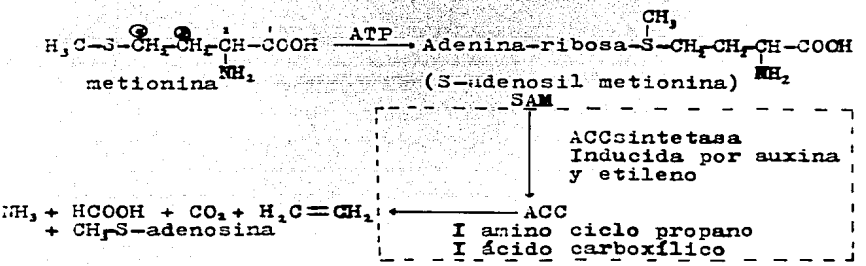
El gas estimula la vejez y la abscisión de las hojas, inhibe el alargamiento del tallo e incrementa su grosor, provoca crecimiento horizontal, retarda la expansión de la hoja así como la abertura normal del epicotilo. El efecto de la madurez se ha observado en frutos: plátano, manzana, piña, mango, etc. Probablemente todas las plantas superiores producen el etileno. En algas no se sintetiza y su influencia es poca. En plántulas el ápice del tejido en formación es un sitio importante de producción, pudiendo esto resultar de las altas cantidades de AIA porque las auxinas estimulan la formación de etileno. En raíces la producción del gas es baja pero las auxinas la incrementan en esas estructuras y las flores también lo sintetizan. La cantidad de etileno se ha medido en frutos-y es baja-pero al elevarse de 0.1ppm a 1ppm(o 1 μ/l) la maduración ocurre.

A este gas se le considera fitohormona debido a que es un producto natural del metabolismo, actúa a bajas concentraciones(junto o en antagonismo con otras hormonas)y no es ni substrato ni cofactor en reacciones asociadas con el desarrollo de las plantas.

a).-Metabolismo. La única substancia precursora del etileno en vegetales su-

periores es la metionina.

Los intermediarios involucrados en la producción de etileno son todavía desconocidos, aunque ya se sabe que son los carbonos 3 y 4 de la metionina - los que originan el gas. Según estudios con ^{14}C empleado como marcador, la metionina es convertida en CO_2, NH_3, HCOOH, etileno y CH_3-S-adenosina .



CICLO NUM. 4.-Los números indican el rearreglo de los átomos de C en la metionina. Nótese que los altos niveles de auxina inducen la producción de etileno porque acumulan a una de las enzimas(ACC - sintetasa). Por otra parte si los niveles de etileno se elevan pueden ser causa de que se induzca peroxidasa, la cual inactiva al AIA. (Lo encerrado entre las líneas discontínuas aun no está bién dilucidado).

El componente de azufre de la metionina no se libera como un compuesto volátil, sino al parecer se reincorpora a los aminoácidos para originar metionina una vez más. Esto es necesario para que siga produciéndose etileno - en los tejidos de la planta pues la metionina está presente a muy bajas concentraciones.

Las diferentes condiciones fisiológicas pueden hacer que la producción - de etileno sea por diferentes medios. Por ejemplo el mal trato, puede provocar la formación del gas por incremento de la actividad de peroxidasa, mientras que la maduración o la senectud aumentan la disponibilidad de la metionina en los tejidos. En algunas plantas la promoción de la abscisión por el etileno puede reemplazarse por la aplicación de metionina.

b).-Localización y transporte. Siendo un gas el etileno se transporta por-difusión a toda la planta.

c).-Efectos fisiológicos. Se demostró que el etileno es un metabolito de - la planta, producido por células sanas, que ejerce control regulador de fenómenos morfogenéticos tales como maduración del fruto y abscisión de las-hojas. Inhibe la expansión de hojas y brotes terminales, así como el crecimiento y el desarrollo de brotes radiculares laterales terminales.

d).-Mecanismos de acción.

i).-Relación del etileno a respuestas de auxinas. Todas las auxinas sintéticas estimulan la producción del gas. Al promover las auxinas la germinación de los granos del polen se produce etileno en el estigma contribuyendo a la vejez de la flor. La abscición(caída) de hojas, flores y frutos involucra interacciones entre auxinas, etileno, citocininas y ácido abscísico. Hay muchos efectos de las auxinas que aparecen independientemente de - la producción de etileno. Solamente cuando la concentración de auxina es - alta la producción de etileno es suficientemente grande para duplicar ciertos efectos de la auxina.

ii).-Unión a metaloproteínas. Se ha propuesto que el etileno se encuentra-unido (la manera se desconoce) a un sitio de algunas metaloproteínas que - posiblemente contienen Cu^{+}, Fe^{2+} o Zn^{2+} y puede servir como regulador.

iii).-CO y CO_2. Se tienen evidencias de la unión del etileno con un metal-(probablemente cobre) presente en alguna enzima no identificada u otra proteína que puede ser de membrana. Estas uniones no producen cambios sobre - la síntesis del etileno y el metal desconocido puede reconocer al CO y al-CO_2. El CO causa efectos parecidos a los del etileno, y a bajas concentraciones inhibe la citocromooxidasa, pero el CO_2 es un inhibidor competitivo de la acción del etileno, de esta competencia resultó que el bióxido de -- carbono puede emplearse para prevenir la sobremaduración de frutas en --

almacén y evitar el efecto del etileno. La atmósfera ideal es 5-10% de CO_2, - 1-3% de oxígeno y nada de etileno.

iv).-Otro mecanismo sugiere que el etileno altera patrones enzimáticos en las plantas, al propiciar cambios en la síntesis de proteínas. Se conoce que el - gas altera las concentraciones de peroxidasa, fosfatasa, celulasa y fenil-amo nil-liasa. Más recientemente se ha propuesto que el etileno puede ser un modu lador de la acción de las demás fitohormonas en el crecimiento y desarrollo - e inversamente las otras hormonas pueden modular a su vez la acción del etile no (49, 75, 76, 100 a 103).

9.- Bioquímica de la germinación de semillas.

La capacidad de las plantas para formar estructuras de supervivencia (se han descrito aproximadamente 400,000 especies de plantas) ha sido importante en la evolución permitiendo colonizar hábitats desfavorables y evitar dificul tades climáticas (96, 104). Por ser autótrofas las plantas es posible sean in móviles, y por ello su fisiología las obliga a vivir en el suelo. Para que el fenómeno de dispersión ocurra debe existir una fase móvil en el ciclo biológi co, siendo esta la manera de controlar su época de reproducción y sus respues tas a las condiciones ambientales fundamentales para que la especie sobrevi-- va. La producción de semillas ha desplazado pues a la producción de esporas - hasta ser los vegetales dominantes de hoy (105 a 113).

En la presente sección nos centraremos básicamente en la germinación de semillas de plantas superiores, donde tal proceso ocurre por la absorción de agua (imbibición) la reactivación del metabolismo y la iniciación del creci-- miento (49, 51 y 71). La intensidad de dicho proceso está determinada por -- tres factores: 1).-composición de las semillas, 2).-permeabilidad al agua, -- controlada por la cubierta seminal y 3).-disponibilidad de agua en el ambien- te. El proceso de imbibición es físico y se realiza a favor del gradiente de potencial hídrico. No se relaciona con la viabilidad de la semilla, por lo --

que ocurre igualmente en semillas vivas,y en aquellas cuya viabilidad ha-sido dañada(1, 3, 4, 114 a 116).

El principal componente de las semillas que imbibe agua son las proteínas, seguidas por otros componentes como mucílagos, celulosa y substancias pécticas. Por otra parte el almidón no participa en el aumento de volumen (hinchamiento)de la semilla, pues para que esto suceda se requiere-un pH muy ácido a una temperatura muy elevada, condiciones que no se presentan en la naturaleza. La imbibición del agua por las semillas es un - proceso osmótico, afectado por las condiciones externas. La composición - de la solución del suelo influye de forma importante en la velocidad de - imbibición, cuando la concentración de solutos en la solución del suelo - aumenta, la imbibición disminuye, puesto que baja el gradiente de potencial hídrico existente entre la solución del suelo y la semilla. La capacidad de éstas para absorber agua del suelo está determinada-también-por-el potencial mátrico, es decir, las moleculas de agua unidas a partículas coloidales del suelo (36, 51, 116 a 118).

Durante el primer estadio de imbibición, la velocidad de la respiración en los tejidos de la semilla aumenta rápidamente, quizá provocando - una reactivación de enzimas preexistentes vía hidratación. En el segundo-estadio se observa un alto cociente respiratorio, o sea que los niveles - de CO_2 producidos son superiores a los niveles de utilización de O_2 lo -- que indica un alto grado de respiración anaerobia, probablemente debido a la restricción de la incorporación del oxígeno impuesto por la testa. Durante el tercer estadio hay cambio rápido hacia mayor empleo de oxígeno,- y por tanto, mayor grado de respiración aerobia (36, 51, 58, 119 a 120).

En conclusión podemos entender la germinación de una semilla como el número consecutivo de eventos que provocan que la semilla latente, con bajo contenido hídrico, muestre un aumento en su actividad metabólica e ini

cie la formación de una plántula a partir del embrión. La integración de dichos eventos están finamente controlados por las fitohormonas ya estudiadas y que a su vez están controladas por el fitocromo. La germinación empieza - con la imbibición del agua y un aumento correspondiente en la actividad respiratoria de los tejidos. Estos dos procesos hacen que aumente el ATP esencial para el metabolismo activo del embrión (60, 71 y 114). El aumento en - la actividad respiratoria parece deberse a la activación de enzimas vía hidratación, pero también pueden ocurrir otros mecanismos, como el observado- en semillas de lechuga donde existe una enzima proteolítica, la tripsina, - que se encuentra inactiva por un inhibidor endógeno (posiblemente ABA).

Aunque durante la germinación ocurre activación de enzimas por diferentes mecanismos, otras surgen como resultado de una síntesis de novo (alfa--amilasa). ¿Cómo rompen las semillas sus reservas de nutrientes y las transfieren a la plántula en crecimiento? Se sabe que la movilización de nutrientes se realiza por la producción de enzimas hidrolíticas en las células de- los cotiledones o el endospermo. En el caso de los cereales las enzimas hidrolíticas (y proteínas) se producen en el endospermo de las semillas (células de la aleurona; 49, 114, 116, 121 a 123).

Los niveles de enzimas amilolíticas en las semillas se encuentran con--trolados por las fitohormonas, particularmente la alfa-amilasa es controlada por las giberelinas en la mayoría de las semillas de cereales. Las GA inducen la síntesis de novo de la alfa-amilasa y el ABA inhibe la acción de - las GA (49, 124). Una vez que los almidones del endospermo han sido hidrolizados, los productos glucosa y maltosa deben ser transportados al embrión.- Al tercer día de germinación, las GA se producen en el eje embrionario, y - en el primer y segundo días la síntesis se realiza en la parte más externa del embrión, es decir, el escutelo.El transporte de los azúcares citados es

la función del escudete, sin embargo, como todos los tejidos de la planta, - la plántula en crecimiento transporta azúcares en forma de sacarosa.

De la misma manera que la reserva de carbohidratos en la semilla debe movilizarse para proporcionar ATP necesario para el desarrollo de la plántula, las proteínas almacenadas en el cotiledón y en el endospermo deben ser degradadas para proporcionar los aminoácidos para una síntesis de novo. En muchas semillas se han encontrado enzimas proteasas y peptidasas que aumentan su actividad durante la germinación. Dichas enzimas se encargan de hidrolizar las proteínas en sus aminoácidos constituyentes siendo algunas de estas activadas mientras que otras son sintetizadas de novo por control de las giberelinas (alfa-amilasa, 49, 51, 115, 124 a 127).

10.-Las lectinas en la fijación de nitrógeno. Steven y Pueppke(128) reportaron la inexistencia de lectina detectable en 5 variedades de soya, que son - capaces de nodular en la raíz al ser infectadas por Rhizobium japonicum y -- que estas semillas probablemente no requieren lectina para la simbiosis. Posteriormente Vodkin (7) trató de determinar que defectos moleculares son los- causantes de la ausencia de LFS concluyendo que la lectina funcional no es - expresada por el ARNm o los niveles del ribonucleico son muy bajos.

Halverson y Stacey(129) detectaron que existe un factor proteínico que - está involucrado con la simbiosis Rhizobium-raíz de soya. Ellos emplearon la cepa de Rhizobium japonicum HS-111 que por sus características fenotípicas- es necesaria para la interacción con la lectina a efecto de llevar a cabo la nodulación. Estos mismos investigadores(130) sugirieron que las lectinas al- unirse a carbohidratos específicos, existentes en la superficie celular-de - la raíz de soya- son capaces de reconocer a los simbiontes siendo también la lectina mediadora entre el huésped y la bacteria. Al pre-tratar la raíz de soya con 30 milimoles del azúcar D-galactosa ó bién con LFS se provoca-empleando la cepa HS-111-un incremento de la nodulación. Al emplear soya de la --

variedad T-102 (la misma que usaron Steven y Vodkin, y cuya carencia de lectina es conocida), al tratarla con R. japonicum HS-111 se comprobó que efectivamente sí nodula, indicándose que es improbable la lectina de la semilla sea responsable de los efectos que se observan en la raíz, y se elucubra sobre la posibilidad de que la LFS de la semilla sea diferente de la producida por la raíz. Cammue y colaboradores (66) por el contrario, reportan que la lectina presente en raíces y hojas de cebada es la misma lectina que la sintetizada en el embrión y para demostrarlo emplearon marcadores radioactivos. Preston y Preston(131) mediante estudios de resonancia magnética nuclear cuantificaron la unión de la LFS a monosacáridos, encontrando que la lectina de la raíz es genéticamente diferente de la lectina de la semilla pero al parecer tienen estructuras muy similares(aunque no idénticas).

La lectina reportada por Newburg y Concon(132) detectada en el gluten del maíz y el arroz probablemente sea sólo una lectina de almacén(en el endospermo) y diferente que la de las plántulas.

Dommergues y colaboradores(27) reportan que según Bohlool y Schmidt podría haber una interacción entre las glucoproteínas segregadas por las raíces de las leguminosas y los polisacáridos de la pared de las bacterias. Estos polisacáridos desempeñarían un papel de receptores respecto a las glucoproteínas. Los Rhizobium presentes en el suelo podrían reconocer a estas glucoproteínas; llamadas lectinas, pero los mecanismos de esta interacción aún no se han podido determinar con claridad.

a).- Metabolismo del nitrógeno. Este elemento es componente imprescindible de los aminoácidos, por lo tanto de las proteínas y enzimas. También es componente fundamental de los ácidos nucléicos (DNA y RNA).

b).-Fijación del nitrógeno atmosférico. El nitrógeno antes de ser asimilado por las plantas superiores debe ser fijado por oxidación a NO_3^- o por redu-

cción a NH_4^+ . Como el N_2 es inerte, estas conversiones son difícilmente realizables, pues requiere de mucha energía así como de presiones y temperaturas muy elevadas(como el proceso Haber-Bosch). Sin embargo existen ciertos microorganismos capaces de reducir el nitrógeno atmosférico a NH_3 a temperatura y presión ambientales y en el suelo. Estos organismos colocan al nitrógeno (como NH_3) para que otros organismos dispongan de él (o sea las plantas). A este proceso de conversión se le conoce como fijación de nitrógeno (25, 28, 30, 49, 75 y 76).

La transformación del nitrógeno es llevada a cabo sólo por algunos microorganismos que pueden estar libres o en asociación simbiótica con las plantas superiores. Entre los fijadores de N_2 , de vida libre y aerobios se encuentran los géneros: Azotobacter, Beijerinckia, Derxia, Achromobacter, Klebsiella(facultativos) y azotomonas(ejemplos: Azotobacter chrococcus y Azotomonas insolita). Entre los géneros anaerobios se tienen:Clostridium, Chloropseudomonas y Bacillus(ejemplos: Bacillus asterosperus y Bacillus amylobacter). Entre las algas verdeazuladas se encuentran las especies: Anabaena, Nostoc y Tolypothrix(ejemplo: Anabaena azolla). Las más conspicuas representantes de los fijadores de dinitrógeno son: Rhizobium y Franckia. Los microorganismos de vida libre fijan aproximadamente de 20 a 60 Kg de nitrógeno por hectárea durante un año, los que viven en simbiosis fijan de 200 a 400 Kg de nitrógeno/Ha en un año. Se ha reportado que la fotosíntesis constituye el factor principal que limita la fijación del N_2 y los resultados obtenidos con soya colocada en ambientes enriquecidos con CO_2 (1000 partes por millón en vez de 300 ppm de la atmósfera normal) indican que la cantidad de nitrógeno fijado en estas condiciones aumentaba de 75 a 425 kilogramos por hectárea. Otros autores comunican cifras que se escalonan entre 10 y 200 a 250 Kg de N_2/ Ha por ciclo de cultivo de soya. Es

tos resultados sugieren que agrícolamente son más significativos los microorganismos simbiontes que los de vida libre.

c).-Infección Rhizobium-raíz. En los simbiontes se han estudiado principalmente las variedades del género Rhizobium (leguminosarum y japonicum) que viven en simbiosis con tipos específicos de leguminosas, donde los microorganismos ceden sus compuestos nitrogenados a la planta huésped a cambio de substancias energéticas que ésta proporciona (aminoácidos, azúcares, vitaminas y otros metabolitos que las raíces poseen). Con relación a la especificidad se reporta que las bacterias nodulares del trébol rojo no forman nódulos en otras leguminosas, las de chícharo son inactivas en trébol y alfalfa. Esta especificidad se debe al reconocimiento mutuo entre la planta huésped y el Rhizobium, que es acompañado por la unión de unas glucoproteínas presentes en la membrana plasmática de los pelos absorbentes de la raíz, es decir, lectinas unidas a bacterias. Es entonces que se forman en raíz de soya de uno a varios tubos de infección, siendo una estructura tubular en cuyo interior las células de Rhizobium se disponen en fila. En 48 horas el tubo de infección alcanza la base del pelo absorbente, penetra en las células de la raíz y por influencia de un mediador químico-aun no determinado-algunas células de la raíz se dividen activamente para formar un meristemo. Las células de Rhizobium contenidas en los tubos de infección son liberadas en el citoplasma de estas células meristemáticas. En esta forma llamada "bacteroide" el Rhizobium fija nitrógeno. Cada bacteria liberada del tubo infectivo queda envuelta por una membrana llamada "peribacteroide". Recientemente Verma(133) reporta que las nodulinas son proteínas específicas de plantas, inducidas durante la fijación simbiótica de nitrógeno, y que además la formación de la membrana peribacteroide que cubre a la bacteria tiene como factor central y principal a las nodulinas específicas para la citada membrana durante la endosimbiosis. La formación de nodulinas y bacterioidinas, conduce a la síntesis de un nódulo efec

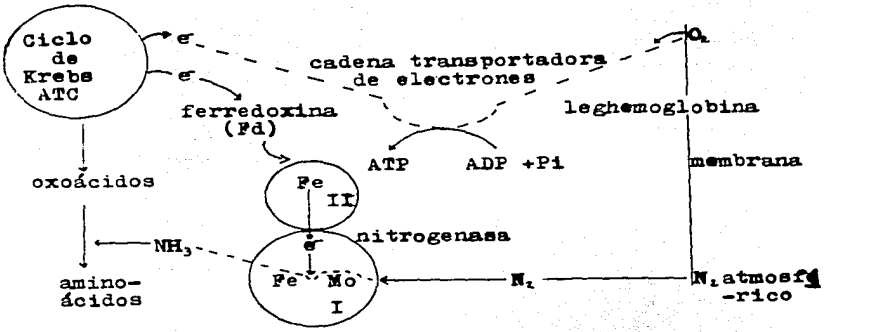
tivo. En algunas leguminosas como el cacahuate, el Rhizobium penetra directamente en las células de la raíz segun un proceso aun mal conocido; después, la infección se propaga por división de las células infectadas y no por mediación de un tubo infeccioso.

Otra forma de infección se tiene con Sesbania rostrata y Rhizobium iniciándose en puntos predeterminados de los tallos, donde cada punto de nodulación está formado por un esbozo de raíz que horada la epidermis del tallo dando lugar al pezón caulinar que regularmente se distribuyen a lo largo del tallo. Las bacterias son llevadas al sitio infectado por el polvo, insectos, lluvia o agua que recubre el suelo de estas plantas de tierras húmedas. Aquí la infección ocurre en la raíz pero mas aún en el tallo(26, 27, 38, 52, 57, 133, 134, 135, 136 y 137).

d).-Funcionamiento nodular. Dentro de las células de los pelos radiculares absorbentes, las bacterias se dividen activamente y producen gran cantidad de poligalactouronasa que enzimáticamente destruye las paredes celulares de los tejidos radiculares de la planta, propiciando el engrosamiento de las raíces y formándose así los nódulos. En soya y varias leguminosas cada célula huésped puede albergar varios miles de bacteroides y al multiplicarse dichas células infectadas forman en la raíz excrecencias de 0.5 a 4 mm siendo estos los nódulos cuyo aspecto varía segun la especie vegetal y la edad del nódulo(sucediendo esto tanto para Franckia como para Rhizobium).En sesbania rostrata las células invadidas por la bacteria pasan a ser numerosas y constituyen un tejido central voluminoso que da lugar a un nódulo caulinar de forma globosa que al cabo de 10 días fijan nitrógeno activamente. En el interior del nódulo se realiza la transformación del nitrógeno gaseoso (N_2) atmosférico en el combinado (NH_3), cuya reducción es catalizada por la enzima nitrogenasa, y es la misma que opera en todas las bacterias fijado-

doras de nitrógeno libres o simbióticas. La nitrogenasa es un complejo enzimático constituido por dos proteínas (I y II). La I tiene molibdeno y Fe siendo- llamada molibdoferredoxina y está formada por 4 componentes idénticos. Tiene - peso molecular de aproximadamente 180,000 y la función de esta proteína es reducir el nitrógeno a NH_3. La proteína II(M = 51,000) o molibdoproteína sólo -- consta de 2 componentes y su función es transferir a la I la energía necesaria para su funcionamiento. En Rhizobium la nitrogenasa in vivo sólo funciona en - presencia de oxígeno. In vitro sólo funciona en ausencia total de éste. La presión del O_2 en los nódulos es muy baja: 0.005 a 0.001 mm de Hg. Si se eleva la enzima se inhibe y el nódulo no fija nitrógeno. Sin embargo, el nódulo es un - gran consumidor de oxígeno. Entonces, se provee de O_2 a las bacterias facili-- tándose la difusión del gas (por ciertas substancias) a presión muy baja hacia el interior del nódulo sin que se desactive la nitrogenasa. Estas substancias- son las leghemoglobinas-leg por leguminosa-que contienen Fe y tienen color rojo o rosado(se asemejan a la hemoglobina sanguínea) y aparecen en los primeros estadios de la infección de la planta por Rhizobium, constituyendo el 35% de - las proteínas del nódulo. La leghemoglobina en una unión reversible acarrea -- oxígeno para el transporte de electrones y forman parte de un conjunto de substancias proteínicas presentes exclusivamente en los nódulos y por ello se les- denomina nodulinas, que son proteínas sintetizadas por la planta huésped y son producto de los genes de la planta y no de la bacteria. Las leghemoglobinas -- son un caso especial: la porción globina es sintetizada por la planta y la --- hemo por el microorganismo simbionte. La leghemoglobina se localiza en el citoplasma de las células vegetales infectadas y es necesaria para el proceso de - simbiosis generando altas tasas de respiración-al transportar suficiente O_2- - con producción consecuente de ATP. En soya se han reportado dos tipos de leg-- hemoglobinas: la F de los nódulos jóvenes y la S de los maduros (27, 30, 136,- 137, 138 y 139).

e).-Mecanismo de fijación del nitrógeno. Es probable sea el mismo para todos los microorganismos capaces de realizarlo. En el ciclo número 5 se muestran las reacciones principales del proceso.



CICLO NUM. 5. Bacteroide conteniendo nitrogenasa, una cadena de transporte de electrones y un ciclo de Krebs en su citoplasma.

En el proceso completo, el nitrógeno molecular es reducido a NH_3. Este requiere electrones y ATP que proporciona el bacteroide. El ciclo de Krebs está asociado con una cadena de transporte electrónico que son suministrados a la nitrogenasa, posiblemente vía ferredoxina.

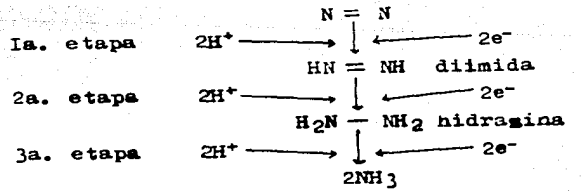


FIGURA NUM. 16. Etapas de la reducción del nitrógeno molecular donde se involucran dos electrones por etapa.

El ciclo de Krebs también proporciona oxoácidos (alfa-cetoglutarato y oxaloacetato) que reaccionan con el NH_3 para dar aminoácidos (por aminación re-

ductiva). Estos compuestos pueden ser utilizados para sintetizar proteínas de los nódulos, aunque la mayoría de los aminoácidos se incorporan al metabolismo del nitrógeno en la planta huésped. La reducción del N_2 se lleva a cabo rápidamente y por ello las etapas individuales no se han investigado detalladamente, pero se ha supuesto que se realiza en tres etapas(ver figura núm.16).

Los electrones necesarios para reducir el complejo fierro-molibdeno(proteína I de la nitrogenasa) son proporcionados por la proteína II, que a su vez los recibe de la ferredoxina o del NADPH requiriendo además ATP(4 moléculas por cada 2 electrones transferidos por la nitrogenasa) por lo que de acuerdo con las tres etapas son 12 los ATP necesarios para la reducción de una molécula de nitrógeno. Se sabe que el Rhizobium requiere cobalto, siendo al parecer indispensable en la vía de síntesis de la leghemoglobina, al igual que el cobre.

i).-Proceso de nitrificación con O_2 del suelo para formar nitratos:

$$2\ NH_3 + 3\ O_2 \longrightarrow 2\ HNO_2 + 2\ H_2O$$

$$2\ KNO_2 + O_2 \longrightarrow 2\ KNO_3$$

Figura num.17. Reacción de oxidación por la descomposición de compuestos orgánicos nitrogenados(proteínas vegetales y animales) para la nitrificación.

ii).-Proceso de desnitrificación: reducción del NO_3 hasta N_2.

$$5C_6H_{12}O_6 + 24KNO_3 \longrightarrow 30CO_2 + 18H_2O + 24KOH + 12N_2$$

Figura num. 18. Reducción del NO_3 a N_2.

iii).-El NO_3^- es forma de nitrógeno disponible para ser absorbido por la planta pero a su vez ésta debe reducir el NO_3^- para incorporarlo a sus macromoléculas convirtiéndolo en NH_3.

Estos tres procesos(i,ii,iii) se han estudiado tanto en raíces de soya como en los nódulos de dicho cultivo. Asimismo se ha involucrado a la enzima nitrato reductasa con las citocininas que inducen la actividad de la enzima.

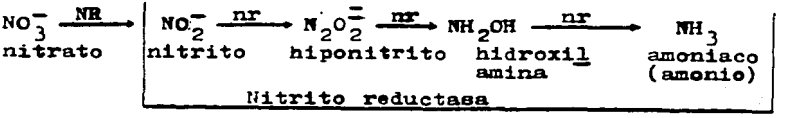


Figura Num. 19. Se requieren 8 electrones por molécula y en la reacción se señalan los intermediarios posibles, necesitándose además dos enzimas:nitrato reductasa(NR) y nitrito reductasa(nr).

También se ha relacionado a los ureidos (alantoina y ácido alantoico) con la fijación del nitrógeno y la producción de nódulos en la raíz de soya(27,28 29, 30, 38, 49, 75, 76, 86, 133, 139, 140, 141, 142 y 143).

11.-Relación lectinas-fitohormonas. Muy recientemente se han relacionado las-lectinas con las fitohormonas-principalmente-reportando la aparición de aquellas como dependientes de estas últimas.

Borrebaeck y colaboradores(144) al investigar con plántulas de frijol(Phaseolus vulgaris)encontraron que las hormonas(citocininas y auxinas)ejercen -- gran influencia sobre la biosíntesis de lectinas. Los autores emplearon diversas concentraciones de citocinina(cinetina) y auxina(ácido 2,4-diclorofenoxiacético). El contenido de lectinas inducido por ambas hormonas se determinó - por inmunoensayos específicos. Las conclusiones fueron que la biosíntesis de-lectina está directamente afectada por la auxina y la citocinina y que en medios sin hormona no se detectan lectinas, por tanto, las fitohormonas tienen-la capacidad de incrementar o suprimir la biosíntesis de lectinas.

James y colaboradores(70) trabajaron con epicotilos, hipocotilos, hojas y raíz obtenidas de semillas germinadas de Dolichos biflorus (kulthi o frijolillo) colocándolos en varios medios tal y como se muestra en la tabla número 1.

Los extractos obtenidos de las partes mencionadas de la planta, fueron -- analizados por radioinmunoensayos específicos para la lectina de semillas y -

para la presente en tallos y hojas de la planta intacta. Se observó que los niveles de lectina decrecen cuando las células se transfieren a los medios que contienen hormonas, y a los que no se les adicionó fitohormonas muestran un incremento en la cantidad de lectina.

TABLA NUM. 1

Medio	2,4-D (Concentración μM)	cinetina (Concentración μM)
A	9.0	0.46
B	4.5	51.00
C	49.0	4.60

Notas:
-2,4-D = ácido-2,4-diclorofenoxiacético
- μM = micromoles

Mediante otros estudios(inmunocitoquímicos y de inmunofluorescencia) sobre cultivos celulares se indica(70) que la lectina del tallo y hojas está presente a nivel celular en la pared y el citoplasma. La capacidad para el crecimiento celular en ausencia exógena de auxinas y citocininas, sugiere que las células por sí mismas producen suficiente nivel endógeno de estas fitohormonas y - al efectuar el tratamiento hormonal se observa inhibición del crecimiento celular y pérdida del color verde.

En otro reporte Miller(84) comunica que la inhibición del desarrollo de -- plantas requiere de concentraciones mucho más altas de citocininas-comparativamente-con las concentraciones que normalmente existen(endógenas y propias de - las plantas).

Liang y Tuan(145) reportaron sus investigaciones sobre la inducción en la- síntesis de varios polipéptidos en las capas de aleurona de cebada(Hordeum vulgare) por el ácido abscísico. Una proteína-de 36 kilodaltons-de las varias que induce el ABA(ver también referencia de Bray y colaboradores, 95), muestra reacción con anticuerpos contra la lectina de cebada determinándose que dicha -- proteína es específica para galactosamina, glucosamina y manosamina. El ABA incrementa el almacén de lectinas para la germinación de las semillas de trigo,-

así como también aumenta la síntesis proteínica durante el almacenamiento tanto de frijol (Phaseolus vulgaris) como de senillas de soya (Glycine max).

Raikhel y colaboradores (146) refieren que la AGT de embriones de trigo -- (Triticum aestivium) es parecida a la que está presente en raíces de este cultivo toda vez que la semilla se ha desarrollado (tal aseveración está de acuerdo con lo reportado por Cammue y colaboradores (66) siendo contraria a lo elucubrado por Halverson y Stacey (130) y Preston y Preston (132).

Según Raikhel una cantidad 10 micromolar de ácido abscísico produce -en promedio- un incremento de 3 a 4 veces más AGT que el existente normalmente en la raíz de las plántulas de trigo. El ABA impide el crecimiento de la plántula y - agregando ancymidol se produce una inhibición parecida del crecimiento pero con esta última substancia mencionada, no se produce elevación del nivel de lectinas. Los autores (146) reportan que realizaron los análisis con el ácido 2,4-diclorofenoxiacético combinado con el ABA. La acumulación de lectina por el ácido abscísico se probó con fluoridona, inhibidor de la síntesis de carotenoides, y- que también provoca reducción del ABA endógeno. Con 10 micromoles de ABA exógeno se estimula la acumulación de lectina en el embrión, pero en presencia de -- fluoridona los niveles no son tan altos como los inducidos por el ABA sólo. Estos resultados -comunican los autores- sugieren que la síntesis de lectina está bajo el control de esta fitohormona en embriones y plántulas adultas de trigo.

V.-ESTRUCTURA DE LA LECTINA DE FRIJOL SOYA.

Lis, Sharon y Katchalsky(147), describen los procedimientos que primeramente emplearon ellos para determinar el peso molecular y la composición de la LFS. Esto lo hicieron a partir de la hemaglutinina cruda preparada de acuerdo a lo referido por Liener y Pallansch(148); posteriormente, Lis y colaboradores realizaron los pasos finales de purificación incluyendo columnas de cromatografía sobre fosfato de calcio y electroforesis sobre partículas de cloruro de polivinilo (Pevikon).

El carbohidrato fue liberado de la proteína en la forma de un glucopéptido por proteolisis de la hemaglutinina con la enzima Pronasa (que rompe el enlace entre la proteína y el carbohidrato; la enzima se prepara mediante filtrados de cultivos de Streptomyces griseus, teniendo Pronasa actividad de beta-N-acetilglucosaminidasa H). Una vez que se aplica adecuadamente la enzima sobre el substrato que son glucoproteínas, hay presencia de cadenas de carbohidratos libres. Después de la purificación con Sephadex y Dowex-50, se encontró que el glucopéptido contenía ácido aspártico unido al carbohidrato de la LFS. El peso molecular del glucopéptido se determinó por centrifugación y correspondió a 4,600 tomando en cuenta el contenido de ácido aspártico, manosa y glucosamina con un residuo sencillo del ácido aspártico por unidad de polisacárido. Para el tamaño del glucopéptido completo, el peso molecular de la LFS total se determinó que era de 110,000 y se concluyó que el contenido de carbohidrato en esta glucoproteína está presente en una simple cadena polisacárida. (Aclaramos que es indistinto emplear las palabras aglutinina y lectina así como las siglas AFS y LFS).

La cromatografía sobre fosfato de calcio (figura núm. 20) revela que hay cinco fracciones de las cuales sólo una de ellas tiene actividad de hemaglutinina, siendo esta la fracción IV; eluida con regulador de fosfatos 0.2 M a pH de 6.8, su actividad específica fue de 540 unidades por mg (esta activi--

dad se determinó de acuerdo al método fotométrico de Liener, usando eritrocitos de conejo tripsinizados).

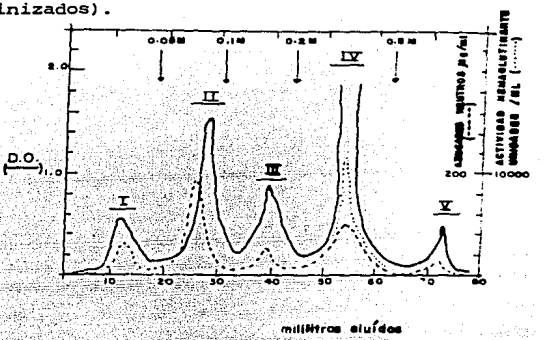


Figura núm. 20.-Cromatografía de la LFS "cruda" sobre fosfato de calcio. Las flechas indican los puntos de cambio de concentración de la solución reguladora (solamente la fracción IV entre 0.2 y 0.5-M tiene actividad hemaglutinante, 147).

La composición de la proteína y carbohidratos de la LFS se observan en la tabla número 2. La lectina es rica en aminoácidos pero tiene un bajo contenido de aminoácidos sulfurados. Tiene alto contenido de serina y treonina así como de prolina y glicina. Manosa y glucosamina son los únicos carbohidratos presentes en la multicitada lectina.

FRACCION	PROTEINA %	CARBOHIDRATOS %
I	3-5	13-14
II	30-32	50-55
III	20-22	5-7
IV	28-30	22-25
V	1-2	1

Tabla núm.2.-Distribución de proteínas y carbohidratos en fracciones obtenidas por cromatografía sobre fosfato de calcio, de la LFS "cruda".

La composición del glucopéptido purificado se observa en la tabla 3, donde los valores del contenido de glucosamina se obtuvieron bajo condiciones de hidrólisis con HCL 6 N a 110°C durante 22 horas. El peso molecular del glucopéptido se determinó por el método de equilibrio de sedimentación (o de Yphantis)

siendo el peso reportado de aproximadamente 4,600 (147). Cabe aclarar que posteriormente los mismos autores reportan equivocado este valor, y en la referencia (149) hacen notar la corrección (M =1,900 en vez de los 4,600 ya especificados).

	Moles de cada substituyente por mol de asparagina: MUESTRA I	MUESTRA II
Manosa	21.70	24.00
Glucosamina	1.84	2.20
ácido aspártico	1.00	1.00
Serina	Traza	Traza
Treonina	Traza	Traza
Lisina	Traza	Traza
Amoniaco	2.44	2.90
Peso molecular	4,400	

Tabla núm.3.-Aminoácidos, amonio y glucosamina determinados después de hidrozarlos. La manosa se analizó por el método de Dubois (147).

La presencia del ácido aspártico en el glucopéptido, junto con los carbohidratos, indica que las cadenas de éstos están unidas a los aminoácidos por uniones covalentes.

CONSTITUYENTE	RESIDUOS POR 100,000 g DE PESO SECO	CONSTITUYENTE	RESIDUOS POR 100,000 g DE PESO SECO
asparagina	97	arginina	18
serina	76	triptofano	18
leucina	63	tirosina	16
alanina	61	histidina	14
glutamina	52	metionina	6
treonina	50	cistina	Trazas
prolina	47	amonio	80
valina	45	manosa	25
glicina	40	glucosamina	3-5
lisina	40	nitrógeno(Kjeldahl)	13.2 %
isoleucina	38	nitrógeno cuantificado	98.0 %
fenilalanina	37		

Tabla núm.4.-Composición de la LFS purificada (147).

Con relación a lo reportado en la tabla número 4, los aminoácidos que componen la lectina de soya están colocados en órden de mayor a menor cantidad en contenido residual y correlacionando estos datos con lo reportado por Sko-

kut y colaboradores (150 y 151)no siendo coincidencia que los aminoácidos:asparagina, glutamina y glicina(de 97, 52 y 40 residuos/100 Kg, véase la Tabla-4) sean utilizados durante el desarrollo de los cotiledones de soya y para el almacenamiento de proteínas, siendo estos tres aminoácidos junto con los ureidos las mayores fuentes de nitrógeno; pero, la asparagina y la glutamina representan el 60 % del N_2 proporcionado por los aminoácidos y que es extraíble del exudado del tallo de la soya.

Según Goldstein y Hayes (14), la más completa caracterización biofísica - de la LFS es la que Lotan y colaboradores (152) hacen en su artículo sobre -- "Subunidades estructurales de la aglutinina de soya", en el que concluyen la LFS es un tetrámero compuesto de subunidades idénticas, teniendo dos sitios - de unión para N-acetil-D-galactosamina, que por los métodos de equilibrio de-diálisis y filtración en gel presenta un peso molecular de 120,000 daltons(dato que concuerda con el valor reportado por Steven, 128).

La LFS aglutina eritrocitos y especialmente células cancerígenas, siendo-las reacciones de aglutinación inhibidas específicamente por la N-acetil-D-galactosamina y en menor grado por D-galactosa. La LFS es una glucoproteína que contiene 4.5 % de manosa y 1.5 % de N-acetil-D-glucosamina. El carbohidrato - se une a la proteína mediante una cadena N-acetilglucosaminílica al nitrógeno amido de la asparagina(ver figura número 21).

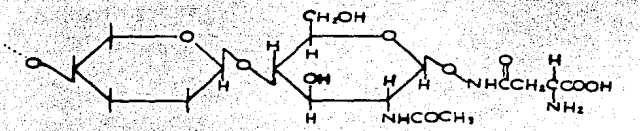


Figura núm. 21.-Unión del carbohidrato a la proteína mediante la cadena N-acetil-glucosaminílica al nitrógeno amido de la asparagina.

Los resultados de los análisis del contenido de aminoácidos de la AFS se-resumen en la tabla núm. 5 y se reportan como el número de residuos por sub--

unidad. La LFS está desprovista de cisteína, y es baja en metionina pero rica en hidroxiaminoácidos.

AMINOACIDOS	Microgramos por mg	Micromoles por mg	Residuos por subunidad
lisina	55.56	0.432	13
histidina	26.89	0.196	6
arginina	33.72	0.215	7
ácido aspartico	140.27	1.219	38
treonina	56.04	0.554	17
serina	68.27	0.783	24
ácido glutámico	71.55	0.552	17
prolina	59.57	0.613	19
glicina	27.72	0.485	15
alanina	53.21	0.748	23
cisteína	0.00	0.000	0
valina	63.21	0.638	20
metionina	4.87	0.036	1
isoleucina	58.34	0.515	16
leucina	94.76	0.837	26
tirosina	28.58	0.174	5
fenilalanina	72.93	0.494	15
triptofano	41.23	0.207	6
T o t a l	955.23	8.698	270

Tabla núm. 5.-Composición de la AFS (152)

La LFS es una glucoproteína que contiene aproximadamente el 7 % (en peso) de carbohidratos, comprendiendo manosa y 2-amino-2-desoxiglucosa. Cada subunidad de aglutinina contiene una cadena oligosacárida compuesta de 9 residuos manosilo y 2 residuos 2-amino-2-desoxiglusilos. La digestión con glucosidasa muestra que la manosa se encuentra en tres regiones distintas del oligosacárido, separadas por residuos 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosilo (ver figura número 22).

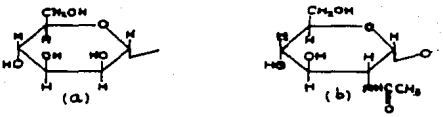


Figura núm. 22.-(a) α-D-manosilo y (b)2-acetamido-2-desoxi-D-glucosilo.

La digestión exhaustiva con alfa-D-manosidasa y 2-acetamido-2-desoxi-be-

ta-glucosidasa, permitió el aislamiento de la región del enlace carbohidra-- to-proteína del glucopéptido (14).

La especificidad de la aglutinina de soya para unirse a los carbohidra-- tos parece estar dirigida directamente hacia ambos anómeros de 2-acetamido-- -2-desoxi-D-galactosa(ver figura núm. 23). Por inhibición de la hemaglutinación se encontraron 4 disacáridos en los que la 2-acetamido-2-desoxi-D-galactosa está encadenada respectivamente por uniones β- D-(1 ⟶ 6), β-D-(1 ⟶ 3) β-D-(1 ⟶ 3) y β-D-(1 ⟶ 4) a la D-galactosa (véase figura núm. 24).

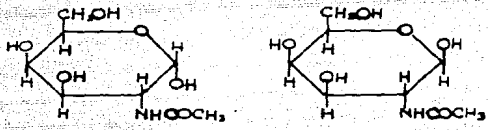


Figura núm. 23.-Formas anómeras (α y β) de la 2-acetamido-2-desoxi-D-galactosa.

En un magnífico y muy completo estudio de la unidad estructural de los -- carbohidratos de la AFS, Lis y Sharon (149) proponen una estructura de la lectina de soya compuesta por manosa, N-acetilglucosamina y asparagina, explicando paso por paso la forma en que se elucidó tal estructura.

La digestión de la LFS con la enzima Pronasa, seguida por filtración en - gel con Sephadex G-50 y cromatografía de intercambio iónico en una columna de Dowex 50-X-2, obteniéndose el carbohidrato (1) de la glucoproteína: α-manosi-- lo_9-β-N-acetilglucosaminil$_2$-L-asparagina = Man_9 $GlcNAc_2Asn$(1), en un alto rendimiento. El cálculo del peso molecular por ultracentrifugación y filtración- en gel de Sephadex G-50, da un valor de 1,900.

El tratamiento de la estructura (1) con la enzima β-N-acetilglucosaminidasa H, proporciona dos fragmentos: GlcNAcAsn y $Man_9GlcNAc$.

La reducción secuencial con borohidruro de sodio, oxidación con periodato y la reducción de la Man_9 GlcNAc, y la acetolisis de la estructura (1) rinde-

manobiosa, manotriosa y $Man_5GlcNAc_2Asn$. La manobiosa y la manotriosa se hidrolizan rápidamente a manosa por acción de la α-manosidasa. La manosa de $Man_5GlcNAc_2Asn$ es liberada por incubación con α-manosidasa seguida por β-manosidasa. La digestión de la estructura (1) con α-manosidasa purificada de Canavalia ensiformis, proporciona una rápida liberación de más de 6 residuos de manosa. Los estudios de metilación junto con la cromatografía de gas líquido y la espectrofotometría de masas, revelan la presencia de derivados de manosa y de la N-acetilglucosamina en hidrolizados de la estructura (1) permetilada. Sobre las bases de estos estudios y análisis, Lis y colaboradores proponen que (1) es una mezcla de oligosacáridos-asparagina con las estructuras deducidas en la figura núm. 25.

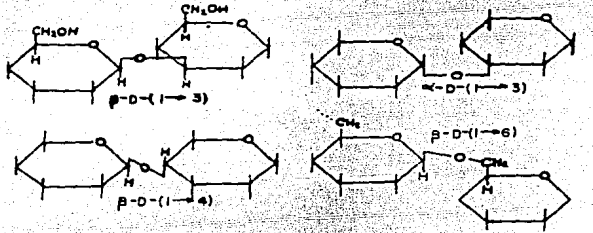


Figura núm. 24.-Uniones a las que está encadenada la 2-acetamido-2-desoxi--D-galactosa. β-D-(1 → 3), α-D-(1 → 3), β-(1 → 4) y β-D-(1 → 6).

El espectro de resonancia magnética nuclear de la LFS para la asparagina -oligosacárido apoya los resultados analíticos ya que muestra señales para dos grupos acetilo, y alrededor de 70 anillos protonados (correspondientes a once residuos de azúcar), y 9.5 protones anómeros. Lo más probable es que los protones anómeros pertenezcan al grupo de cadena β-N-acetilglucosamina, mientras que los otros pertenecen a los residuos α-manosilo.

Lis y Sharon demostraron por vez primera la presencia de una glucoproteína de plantas(AFS) ampliamente distribuída cuya estructura central principal

es Man-α-(1 ---→ 3) Man-α-(1 ---→ 6) Man-β-(1 ---→ 4)GlcNAc-β-(1 ---→ 4)GlcNAc, sugiriendo una ruta biosintética común para unidades de carbohidratos encade-- nados a la asparagina en animales, microorganismos y plantas.

Recientemente, Faye y colaboradores (62) determinaron la estructura de la- fitohemaglutinina obtenida del frijol (Phaseolus vulgaris). Los autores re---- fieren la existencia de dos tipos de oligosacáridos unidos a un residuo de as- paragina por cada polipéptido; es decir, una cadena de manosa con la fórmula - $Man_{8-9}GlcNAc_2$-Asn y otra cadena compuesta por los azúcares:xilosa,manosa y fu- cosa enlazados a la asparagina(para las claves sobre fórmulas estructurales -- ver la página 25). También se especifica y discute sobre los sitios celulares- en que ocurren las glucosilaciones, concluyéndose que estos suceden en el retí culo endoplasmático y el transporte se realiza a través del aparato de Golgi.

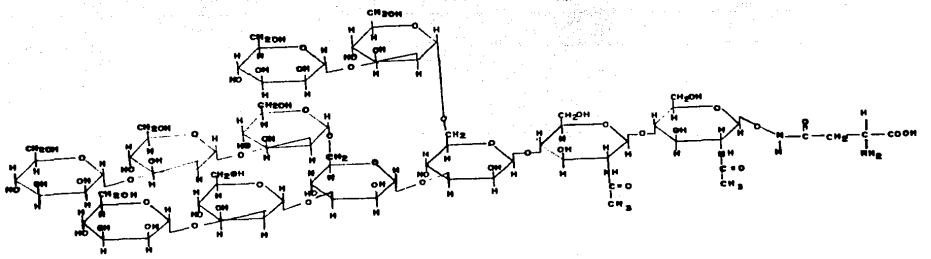


Figura núm. 25.-Esta estructura de la LFS no ha sido representada nunca como se muestra en la presente figura, habiéndose deducido de la referencia (149) en su totalidad. Asimismo, con la lectina de soya se tiene la primera demostración de la presencia de glucoproteínas en vegetales, cuya ramificación principal es: Man-α-(1 ⟶ 3)Man-α-(1 ⟶ 6)Man-β-(1 ⟶ 4)GlcNAc-β-(1 ⟶ 4)GlcNAc.

VI.-ACTIVIDADES BIOLOGICAS DE LAS LECTINAS.

Es fundamental tener una sección dedicada a la unión de lectinas, pues -- las actividades biológicas dependen de la interacción entre lectinas y otras- substancias o células. Aquí se expondrá brevemente sobre la unión de lectinas con células:oncogénicas de animales y humanos, microorganismos, virus, etc.,- así como uniones lectina-lectina y azúcares-lectina.Igualmente incluiremos -- otros aspectos como génesis e interacción lectina-eritrocitos ya que el tema- unión de lectinas con membranas de organelos celulares vegetales ya se trató- en el capítulo IV partes 2, 3 y 4.

Una pregunta que surge al estudiar la unión de la LFS con concanavalina A es:¿Porqué ambas lectinas son capaces de unirse y además tener esa especificidad tan alta? La respuesta no es sencilla pero se encuentra en lo especificado en el punto 1 que anotamos enseguida:

1).-Aspectos genéticos de la CON A.

a).-Precursores. Gatehouse y Boutler (153) empezaron a contestar-la pregunta- anterior-al escudriñar sobre cuales podrían ser los precursores de las lectinas del chícharo y la lenteja.

b).-Pro-CON A. Carrington y colaboradores (154) enfocan su investigación ha-- cia los sitios multivalentes de las lectinas que unen carbohidratos para aglutinar. Se trata de determinar la secuencia de nucleótidos del DNA que dicta - la información para la síntesis de pro-concanavalina A (pro-CON A), y también la secuencia de aminoácidos de donde se deriva el sitio de glucosilación co-- rrespondiente.

c).-Pre-pro-CON A, pro-CON A y CON A. Chrispeels y colaboradores (155) reportan que la CON A no es una glucoproteína(lo que también aclaran Agrawal y Goldstein,156) tratándose de una proteína globular. Igualmente Perez(157) reporta que la lectina obtenida de semillas de Erythrina es una glucoproteína dimérica donde el carbohidrato está unido a la globulina que también es proteí-

na. La CON A es sintetizada in vivo a través de un precursor(pro-CON A) que- procesa a la lectina como un producto de post-traducción, resultando que se- pierde un glucopéptido pequeño que posee una cadena oligosacárida con alto - contenido de manosa. La pro-CON A tiene secuencia de aminoácidos diferente a la lectina de canavalia demostrándose que dicho precursor se localiza primeramente en el retículo endoplasmático. Se detectó-asimismo-la existencia de- la pre-pro-CON A comparando las secuencias de aminoácidos entre ésta, la pre -CON A y la CON A determinándose que hay similitud entre ambos precursores- y la lectina.Los datos de Chrispeels (155) apoyan la hipótesis de Carrington (154) la cual establece que la biosíntesis de CON A involucra rompimientos - de cadenas peptídicas y es gracias a ellos que se forma la concanavalina A,- concluyéndose que esta lectina se sintetiza de manera igual que si se tratara de glucoproteínas con alto contenido de manosa, y que por pérdida de un - glucopéptido pequeño pasa a formar la CON A. En su mismo artículo los auto-- res explican que la pro-CON A no tiene actividad de lectina pues no es capáz de unirse al Sephadex G-50.

d).-Inducción de la génesis de lectinas. Stubbs y colaboradores(158) estudiaron las bases moleculares de la especificidad del glucopéptido de la lectina de chícharo, induciendo alteraciones sobre los aminoácidos específicos y- también en el sitio de unión del carbohidrato de la lectina de esta leguminosa. El sistema se basó en la producción de aglutinina por Escherichia coli. El plásmido inserto codifica para la lectina y posteriormente se demostró -- mediante ensayos de hemaglutinación que no hay diferencias detectables entre la lectina natural-del chícharo- y la inducida para su producción en la bacteria.

2).-Unión de lectinas.

a).-Polaridad de azúcares. Los azúcares son compuestos no iónicos pero de carácter polar cuya solubilidad se debe a la tendencia de las moléculas de --

agua a establecer enlaces de hidrógeno con grupos polares (-OH, -C=O y --CH=O). El agua también dispersa compuestos que contienen grupos no polares o hidrófobos ($-CH_2$, CH=CH, etc.) pero siempre y cuando tales compuestos posean también grupos fuertemente polares y esto resulta por el establecimiento de enlaces de hidrógeno (como sucede con -OH, -C=O, etc.). La propiedad en común resulta de que el agua tiene mayor afinidad por sus propias estructuras que por las no polares. La interacción hidrófoba se refiere a la asociación de las porciones hidrófobas de las moléculas anfipáticas(con grupos polares y no polares). En comparación con los enlaces de hidrógeno, las interacciones hidrófobas poseen poco carácter direccional, pero tienden a producir sistemas de elevada estabilidad(38, 39 y 45).

b).-Hidrofobicidad. Varios autores (14, 61, 131, 159, 160 y 161) hacen resaltar las propiedades hidrófobas de diferentes lectinas: Phaseolus lunatus, Glycine max y Urtica dioica. Sobre la concanavalina A se reporta que posee una región de interacción hidrófoba adyacente al sitio en que se une a los carbohidratos que interaccionan con la lectina. También la aglutinina de Urtica dioica(AUD o LUD) tiene una región de interacción hidrófoba adyacente al sitio de unión del carbohidrato y consistente de una cadena polipeptídica sencilla que posee dos sitios de unión por carbohidrato. Mediante el espectro de resonancia magnética nuclear se cuantificó la unión de la LFS a monosacáridos, cabiendo la posibilidad de que dichos monoazúcares se unan a los sitios hidrófobos de la lectina. Se determinó que la unión específica del azúcar de la LFS puede acomodar un substituyente hidrófobo sobre el carbono-2 de la galactosa. Los substituyentes hidrófobos en posición anómera incrementan la afinidad por la interacción. El grupo -OH del C-6 estabiliza mucho la unión. Existe además la interacción entre glucoproteínas y membranas, así como su relación con moléculas hidrófobas e hidrofílicas lo cual se mencionó en las páginas 35 y 36.

c).-Uniones. Sharon y Lis (10 y 61) así como otros autores (14, 15, 162, 163 y -- 164) enfatizan y reportan sobre la interacción entre lectinas. Los estudios de inhibición hapténica con oligosacáridos que contienen cadenas alfa-D-(1 ---→ 2) de - manosa (con formación de precipitado) han conducido al importante descubrimiento- de que éstos residuos de la LFS son excepcionalmente reactivos para la CON A, los di y tri-sacáridos alfa-D-man-(1 ---→ 2)-D-Man y alfa-D-Man-(1 ---→ 2)-alfa-D-Man-- -(1 ---→ 2)-D-Man son de 4 a 20 veces más potentes que el metil-alfa-D-Man. Por el contrario, los residuos alfa-D-(1 ---→ 3)Man y el alfa-D-(1 ---→ 6)-Man no intracci onan con la lectina de canavalia (14).

Muchos investigadores le conceden gran importancia a la unión de diversas lectinas con lectinas, células o substancias principalmente azúcares o combinaciones de ellos (17, 20, 46, 47, 60, 147, 149, 161 a 165 y 166 a 180). Ochoa(165)-al igual que la mayoría de los autores referidos-reportan que para aglutinar células en suspensión la lectina debe ser bivalente (poseer al menos 2 sitios de enlace). -- También Zenteno y colaboradores (180) así como otros autores ya citados mencionan que el reconocimiento de grupos sanguíneos es por la parte reductora no terminal- de la cadena de carbohidratos (ver figuras 29 y 30 de los grupos sanguíneos A y B) refiriendo los investigadores que los oligosacáridos localizados en la superficie de la membrana celular (y las glucoproteínas) son aglutinadas por las lectinas, - siendo dicha unión-de aglutinación-reversible al agregar azúcares específicos que por competitividad o inhibición provocan la inversión de la reacción (ver figuras 26, 27 y 28).

3).-Actividades enzimática y de hemaglutinación. Las semillas de soya contienen - una proteína unida a la galactosa, la cual muestra dos tipos de actividades:

a).-Actividad como alfa-galactosidasa

b).-Actividad de hemaglutinina

Campillo y Shannon (181) reportan lo anterior y agregan que la proteína puede separarse fácilmente de la LFS, obteniendo la N-acetilgalactosamina específica de la lectina. La alfa-galactosidasa con las propiedades de una hemaglutini-------

na puede transformarse reversiblemente por cambios de pH, pasando de la forma tetramérica a la monomérica(poseyendo la primera actividades enzimática y dehemaglutinina y la segunda sólo enzimática). Ambas formas son enzimáticamente activas, pero muestran diferentes pH óptimos y especificidades de carbohidratos.

4).-Aglutinación de células oncogénicas. La LFS específica para cadenas α y β- de N-acetil-D-galactosamina también aglutina líneas celulares de ratón, de rata y humanas que han sido transformadas por carcinógenos virales o químicos.- Por contraste, las células transformadas de hámster no son aglutinadas, mientras que las normales de esta misma especie pueden ser aglutinadas después del tratamiento proteolítico suave con tripsina, y así sucede también con otras - líneas celulares. En todos los casos la aglutinación es inhibida específica-- mente por la N-acetil-D-galactosamina, sugiriendo que este sacárido(o uno - estrechamente relacionado) es el receptor terminal no reductor para la LFS en la superficie de las membranas de células aglutinables (10). Recientemente Piller y colaboradores (182) reportaron que la lectina de semillas de Salvia -- sclarea específica para N-acetil-D-galactosamina está siendo muy empleada para detectar tejidos oncogénicos. Una amplia gama de lectinas fueron utiliza-- das por Aggarwal y colaboradores (183) para investigar los efectos que estas pueden tener sobre líneas celulares de carcinoma cervical humano demostrándose que la CON A incrementa el número total de sitios de unión del factor alfa -recombinante que causa la necrosis tumoral en humanos. Las otras lectinas empleadas fueron :ricina II, FHA, lectina de cacahuate, AGT, lectina de Lotus - tetragonolobus y succinil-CON A. Sastry y colaboradores (184) emplearon la -- lectina de Artocarpus integrifolia específico para el antígeno Thomsen-Friedenreich(T) de origen no oncogénico y por esta razón, se considera a la lectina con un gran potencial para seleccionar tejido carcinógeno del que no lo es. Se sugiere que los grupos -OH de los carbonos 2,3,4 y 6 de la configuración -

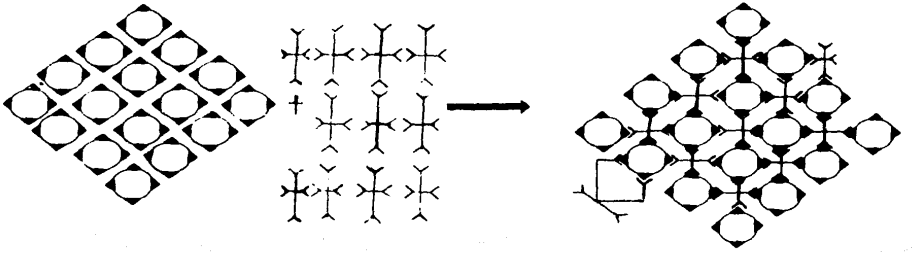


Figura núm. 26.-Fenómeno de unión célula-lectina donde los triángulos que rodean los círculos (células)-- representan los azúcares receptores específicos; por ejemplo, de las substancias de grupos sanquíneos A o B (ver figuras 29 y 30), y la lectina tetravalente podría ser la LFS (figura 25).

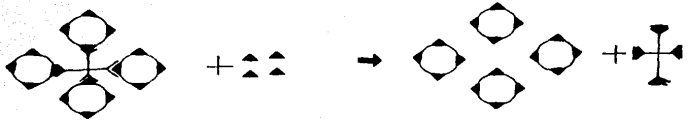


Figura núm. 27.-El primer fenómeno de inhibición ocurre después de la aglutinación al agregar azúcares específicos-triángulos negros-hay reversibilidad ("desaglutinación"), separándose las células de las lec--- tinas.

de la D-galactosa son lugares de importancia para la unión con la lectina. El antígeno (T) tiene la unión específica: beta-D-Gal-NAc.

5).-Otras propiedades. Los papeles de las lectinas en la naturaleza continúan siendo un misterio tanto en las plantas como en otros organismos. Se les han atribuido diversas y variadas funciones (ya reportadas en el capítulo II) aquí sólo se comentará que desde el punto de vista de sus propiedades mitogénicas, es posible que su función sea la de controlar la división celular durante la germinación en las plantas (10).

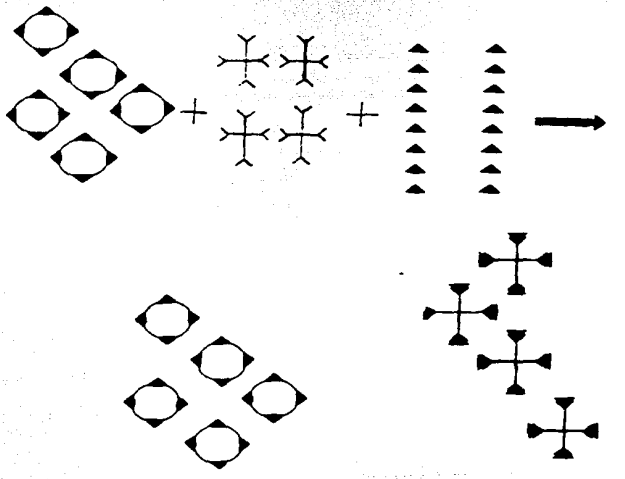


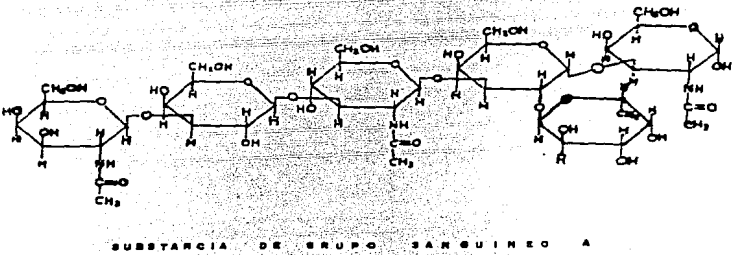
Figura núm. 28.-Existe un segundo fenómeno de inhibición(el primero ya se mencionó en la figura 27) donde las lectinas se unen a monosacáridos - impidiendo-por ocupación de los sitios de unión-la aglutinación - celular.

6).-Especificidad e inespecificidad de grupos sanguíneos. Tanto la LFS como la --- Con A no muestran especificidad para grupos sanguíneos humanos, siendo por esta razón inespecíficas, pero como ya se dijo anteriormente sí muestran especificidad hacia ciertos azúcares:la CON A haciaα-D-Man,α-D-Glc yα-D-GlcNAc; la LFS haciaα y β -D-GalNAc. Estas lectinas interactúan con los receptores de la superficie de los-

Cuadro núm. 5 PROPIEDADES BIOLOGICAS Y USO DE LECTINAS (10, 15, 22, 156, 166, 167, 170, 180, 184 a 198).

Propiedades biológicas	Aplicación o Usos
1.-Aglutinación de:	
(a).-eritrocitos	1.-(a) Tipificación de grupos sanguíneos, estudios de substancias - de grupo sanguíneo, identificación de nuevos tipos , diagnóstico de - secretores y estudios de poliaglutinación.
(b).-células	
(c).-partículas	
(d).-linfocitos	
(e).-tumores celulares	1.-(b, c, g, h) aglutinación de células y partes de estas(p. ej. virus, organelos celulares y vesículas).
(f).-microorganismos	
(g).-virus	
(h).-vesículas	
	1.-(e) Investigación de la arquitectura de las superficies celulares y transformaciones por procesos malignos.
	1.-(d) Estimulación mitogénica de linfocitos en estudios clínicos e inmunológicos; inducción de aparición de macrófagos e incremento de fagocitosis, investigación de la - constitución cromosómica de células y anormalidades cromosomales,- estudios sobre fibroblastos de humanos.
	1.-(f y g). Aglutinación y precipitación de ciertos grupos bacterianos, diagnóstico e identificación de bacterias y virus.
2.-Inhibición de la actividad de enzimas glucoproteínicas	2.-Aislamiento de enzimas (glucosa oxidasa), aislamiento y purificación de carbohidratos.
3.-Función inhibidora del desarrollo de hongos	3.-Inhibición de T. viride y F. solani por ACT
4.-Actividad citotóxica - en animales	4.-Estudios del valor nutricional de comestibles animales, en tomate
Continúa:Actividad citotóxica en animales	y después de la ingestión de la lectina presente en la semilla del fruto a través de su paso - por el tracto gastrointestinal. Medicionesde la toxicidad de lectinas por ingestión.
5.-Precipitación de polisacáridos y glucoproteínas	5.-Aislamiento, purificación y estudios estructuralesde polímeros con CH. Modelo para la interacción Ag-Ac.---
6.-Unión de azúcares	6.Estudios de sitios de combinación sobre proteínas,glucoproteínas de queratinocios humanos y- de cerdo, así comohepatolectinas.
7.-Investigación sobre ribonucleasas	7.-Ribonucleasas de vísceras humanas en columnas de Sepharosa-lectinas.
8.-Control natal	8.-Impedimento-porlectinas-de la fertilización del óvulo al contactar con espermatozoos.

eritrocitos y a partir de ello se puede explicar el caso de la CON A, ya que - es conocido que ninguna de las substancias solubles de grupo sanguíneo(azúca-- res que confieren especificidad hacia los grupos ABO), contienen D-manosa o - D-glucosa y por tanto no hay interacción con la lectina; por otro lado, los -- glóbulos rojos sí tienen residuos N-acetilglucosamina, pero este inmunodeter-- minante no es específico para grupo sanguíneo. En el caso de la LFS, la falta de especificidad de tipo sanguíneo es resultado de su incapacidad para distinguir entre cadenas α y β de la NAc-D-Gal.



SUBSTANCIA DE GRUPO SANGUINEO A

Figura núm. 29.-Substancia de grupo sanguíneo tipo A

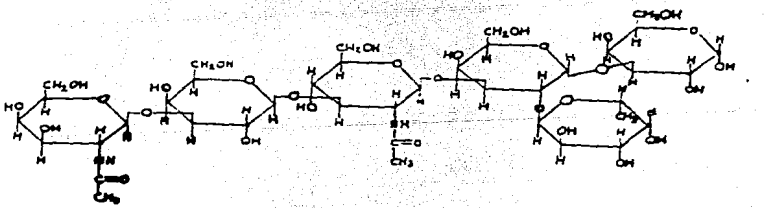


Figura núm. 30.-Substancia de grupo sanguíneo tipo B

Neucere (199) refiere que las lectinas obtenidas de granos de sorgo(Sorghum bicolor, L. Moench.) de las variedades CK60, NSA740 y TX615 son capaces de - aglutinar eritrocitos de grupos A^+,B^+,O^+,AB^+ y A^-; pero sin ser específicas. --

Sin embargo el autor refiere que puede cuantificarse el título de hemaglutinación(TH); por ejemplo, para CK60 se reporta un TH de 75 para eritrocitos grupo A factor Rh^+, de 130 y 225 para las variededes NSA740 y TX615 respectivamente. Asimismo, la lectina de la variedad CK60 muestra un TH de 150 para grupo - B^+, mientras que-como ya se dijo-para A^+ tiene un valor de 75. Las otras dos - lectinas de ambas variedades también pueden ser específicas mediante la cuantificación.

7.-Efectos sobre la síntesis de linfocitos. Ha quedado bien establecido que la CON A estimula la síntesis de DNA en los linfocitos y que es mitogénica para - linfocitos de ratón. Karsenti y colaboradores(191) han reportado que la AGT -- puede ser útil para estudiar la interacción de las lectinas con membranas, en- relación al control de la síntesis del DNA en los linfocitos. Estos investigadores mostraron los efectos de la AGT sobre la síntesis de DNA de timocitos.

8.-Actividad mitogénica de la LFS. Se encontró que depende de la presencia de- agregados formados en preparaciones de lectinas almacenadas en estado de lio-- filización. Schechter y colaboradores(200) reportan que tales preparaciones de LFS muestran máximo estímulo sobre las células de los nódulos linfáticos de -- cerdo, sin tratar y tratadas con neuraminidasa a concentraciones altas en un - intervalo que vá desde 100 a 2,000 microg/ml. Después de la separación de --- fracciones sin agregación(divalentes) y poliméricas (tetra y multivalentes), - se determinó que las lectinas sin agregación no estimulan las células, mien--- tras que las fracciones tetra y multivalentes fueron activas. Estos resultados sugieren que la LFS deberá tener al menos cuatro sitios de unión del azúcar para poder estimular linfocitos (200). Se demostró que sólo los polímeros de la- LFS son mitogénicos. Las preparaciones de la lectina altamente purificada, que están completamente desprovistas de cualquier material agregado, no tienen actividad mitogénica. Las preparaciones con pesos moleculares de 240,000(altamente poliméricas) son activas. Esto indica que la LFS debe tener al menos 4 va--

lencias (número de sitios de unión)para actuar como mitógeno, de hecho se con-- cluyó que el incremento de la valencia de las moléculas agregadas de la LFS es- responsable de la actividad mitogénica (200). Se determinó también, que las --- grandes cantidades de monómeros presentes en la LFS interfieren con la activa-- ción celular de la lectina.

En otro trabajo (201) se reporta que el paso crucial en la formación de --- agregados es la "nucleación", donde los primeros receptores de cadena cruzada - se obtienen. Este paso parece requerir un número mínimo de moléculas de lectina unidas a receptores de membranas celulares con cierto grado de movilidad. La -- formación de agregados es muy probable que sea el paso crítico y principal para que las alteraciones de las estructuras de la membrana puedan servir como señal de arranque para el proceso de la mitosis;por ejemplo, incrementando el flujo - de Ca^{++} a través de los poros.

Otros autores también reportan que los cationes Mg^{2+}, Mn^{2+}, Ca^{2+}, etc. son- fundamentales para los fenómenos de unión (202), y se dice que éstos son nece-- sarios para su actividad en lectinas de distintas fuentes(como en huevecillos,- 203) o en el músculo esquelético de pollo(204).

Tabla No. 6

Propiedades químicas, físicas y biológicas de la CON A y la LFS purificadas (14)

Nombre	M	pH	Subunidades estructurales M	No.	Glucoproteínas %C.H.	Azúcares	Composición de A.A. Cist.	Met.	Especificidad de grupo - Sanguíneo	Especificidad de C.H.
Canavalia Ensiformis:	104,000 – 52,000	7 5	26,000	4	--	---	--	2	Inespecífico	α-D-Manp > α-D-Glcp > α-D-Glc-NAc
Glycine max:	120,000- -122,000		30,000	4	7	Man,GlcNAc	--	1	A > O > B	α-D-GalNAcp > β-D-GalNAcp

Claves: M= peso molecular, No.= número, C.H.= carbohidratos, Cist.= Cisteína, Met.= metionina.

VII.-DISCUSION Y CONCLUSIONES.

Hemos visto-a través del presente trabajo-que las lectinas tienen una amplísima gama de aplicaciones potenciales en diversas ramas científicas: inmunología, medicina, bioquímica, biología, etcétera. Pero como ya se enfatizó aquí nos interesan más los aspectos de aplicación agrícola, y para lograr la comprensión de los fenómenos de interés para la agricultura es necesario-tal y como se hace en el presente trabajo-considerar algunos detalles referentes a la conformación de la molécula, tanto de las aglutininas, como de las uniones: azúcar-azúcar y azúcar-aminoácidos que la componen. Es también necesario tomar en cuenta sus fuentes naturales y tratar de explicar las funciones exponiendo los diversos estadios fisiológicos y relacionar las lectinas con procesos vegetales, revisando sus localizaciones en los mismos.

Por lo que respecta a la actividad de hemaglutinina en dos capítulos (II y VI) se mencionan, ya que se trata de una herramienta muy útil que principalmente nos puede proporcionar conocimiento de las especificidades de unión: azúcar-lectina y lectina-célula (además de que-según Neucere-pueden hacerse cuantificaciones, ver las páginas 96 y 97), siendo la hemaglutinación lo que en primera instancia condujo a los investigadores al estudio de estas substancias vegetales y a su reconocimiento. Posteriormente se repasa la química y la bioquímica de azúcares desembocando en el proceso fisiológico de la germinación, en relación con las aglutininas. Después se incluyó un capítulo sobre fisiología de plantas no sin antes recalcar la importancia que tiene la localización de estas substancias en las células y los órganos de los vegetales superiores, refiriendo-además-las interacciones de unión.

Con la expresión genética se trata de lograr una explicación de la manera como se sintetizan-mediante enzimas-los azúcares a diferencia de las proteínas en las plantas superiores, y de que manera las enzimas son inducidas, reguladas, estructuradas, reprimidas, etc. para posteriormente tratar de comprender-

como es que se unen las proteínas y los azúcares para conformar las glucoproteínas.

Una de las partes más importantes e interesantes del presente trabajo lo es la referente a los procesos fisiológicos regulados por las fitohormonas, tratando de lograr el entendimiento del papel de las FH en los vegetales superiores y sobre todo su relación con las lectinas, ya que las citocininas y las auxinas ejercen una gran influencia sobre la biosíntesis de las aglutininas(144) aunado a que el ABA es capaz de incrementar el almacén de lectinas para la germinación, afirmándose que con el abscísico los niveles de lectina se elevan (145 y 146), pero en medios carentes de hormonas (citocininas y auxinas) no se detectan las lectinas teniendo pues las fitohormonas la capacidad de incrementar la biosíntesis de aglutininas. También se reporta lo contrario (supresión de la biosíntesis de lectinas), pero cuando las cantidades de FH son mayores a las reportadas como concentraciones normales-naturales(70 y 144). De lo anterior,nosotros podemos concluir que las lectinas es posible sirvan de indicadoras para determinar si a un lote de semillas se le deben agregar fitohormonas con objeto de producir estímulos en sus procesos fisiológicos (cercimiento y desarrollo), siendo las lectinas quienes indirectamente indiquen la existencia de FH, y puesto que estas últimas substancias son normalmente contenidas en pequeñísimas cantidades (0.01 a 1.0 μM de citocininas y 1-0.1 μM para auxinas) su detección y cuantificación es más difícil. Puede argumentarse que se realicen análisis empleando a las propias FH pero eso implica altos costos y espera por largos períodos de tiempo (hasta desarrollo de plantas en invernadero). En cambio las lectinas son relativamente fáciles de detectar mediante ensayos de hemaglutinación, difusión en gel, cromatografías, etc.empleando estos tipos de análisis se pueden cuantificar-auxiliándose con la construcción de patrones-las cantidades de lectina y en consecuencia correlacionarlas con las cantidades de FH presentes por cultivo y variedad de semillas, siendo esto último de utilidad para determinar si a las

semillas se les deben aplicar fitohormonas o bien no son necesarias, siendo común escuchar que con el empleo de reguladores del crecimiento a veces se logran éxitos impresionantes y en otros casos fracasos rotundos e inesperados, debidos posiblemente a que si se tiene exceso en la cantidad de FH(la existente en forma natural más la agregada) en vez de producirse el estímulo se inhibe el crecimiento y desarrollo, probablemente porque el exceso de auxinas y citocininas estimula la producción de etileno(ver páginas 51, 60 y 62) aunque en ciertos casos las citocininas-en concentración normal-inhiban al etileno(ver página 47).

Otro detalle de importancia es el que la biosíntesis de giberelinas, carotenoides, ABA, esteroles y probablemente las citocininas(49, 75 y 76) sean sintetizadas a partir de intermediarios comunes que van desde la vía glucolítica- a piruvato, hasta el ácido mevalónico-vía aceto acetil-CoA y acetil-CoA-para dar pirofosfato de isopentenilo a farnesil pirofosfato(donde puede haber desviación para formar escualeno y esteroles, así como ABA) y del geranil-geranil pirofosfato pasar a formar fitoeno y carotenoides;así como del mismo precursor geranil-geranil-PPi, dar lugar al pirofosfato de copalil para sintetizar las giberelinas.(De las citocininas no se ha aclarado por cuales vías podría entrar al ciclo 2 de la página 54). También es sorprendente lo señalado en la página 48 sobre el incremento de citocininas al estar en desarrollo las plantas superiores así como el que la FH promueva la atracción de nutrientes desde las hojas envejecidas a las jóvenes, señalándose la importancia que tiene la hipótesis sobre que las citocininas estimulan el movimiento de azúcares, aminoácidos y otros solutos(página 48). Esto aunado a lo reportado en las referencias 70, 144 a 146 sobre el incremento en la cantidad de lectinas en presencia de citocininas, auxinas o ABA nos hace elucubrar que algunos azúcares y aminoácidos pueden tener relación con las lectinas faltando establecer de que forma las fitohormonas hacen que se incremente la cantidad de lectinas(además de solutos, aminoácidos y azúcares), es decir, cual es el mecanismo que explique lo

argumentado en el presente trabajo.

En la bioquímica de la germinación de semillas se mencionan fenómenos de -- dispersión y supervivencia de las plantas superiores, explicándose factores tales como absorción de agua y el proceso de incorporación del vital líquido en - semillas, concluyéndose que la germinación es una serie de eventos fisiológicos provocados por el agua(si es que no hay anormalidades, dureza o dormancia) en - que el aumento de la actividad metabólica se inicia con la formación de la plántula a partir del embrión, pero todo ello finamente controlado por las fitohormonas. Otro proceso fisiológico interesante es el relacionado con la fijación - de nitrógeno, sobre todo porque ha sido un tema controversial, ya que autores - como Steven y Pueppke(128)reportan que no es necesaria la lectina para la fijación; y por el contrario, Vodkin (7), Makela, Goldstein (14 y 15) y Dommergues-(27) reportan que sí lo es. Halverson y Stacey (129 y 130) resuelven la cuestión argumentando que es improbable la lectina de la semilla sea responsable de - los efectos que se observan en la raíz, y posiblemente la LFS de la semilla sea distinta de la producida por la raíz. Preston y Preston(131)así como-indirectamente-Newburg y Concon(132)parecen apoyar a Halverson y Stacey, en cambio, Cammue y colaboradores(66) refieren que la lectina de raíces y hojas de cebada es la misma que la del embrión.

De acuerdo con lo que puede observarse en la molécula de la LFS(figura 25), se reporta que al menos los 2 disacáridos en uniones alfa-(1 ---→ 2) y el trisacárido de uniones alfa-(1 ---→ 2) precipitan al reaccionar con la lectina de canavalia, siendo esas cadenas las que se unen específicamente a la CON A (10 y - 14). Aquí concluiremos, que es más difícil reaccionen las cadenas alfa-(1 ---→ 3) debido a que el lado reductor C-4 de los azúcares de dichas cadenas está muy cerca del carbono en posición 3; y además, las uniones alfa-(1 ---→ 3) están situadas en sitios más internos de la cadena, cerca de las ramificaciones alfa-(1 --→ 6), por lo que hay una estabilidad mayor, pues existen más fuerzas electros-- táticas en juego (a efecto de hacer esos sitios más estables) que en las cade--

nas externas. Aun así esto no quiere decir que los azúcares en posiciones alfa--
-(1 ---→ 3) sean inertes por completo, sino por el contrario, pueden servir para-
el almacenamiento y posteriormente como nutrientes. En la misma figura 25 , se -
puede ver que hay 4 uniones alfa-(1 ---→ 2) siendo tales lugares los sitios de en
lace a otras lectinas (CON A), azúcares (alfa y beta-D-GalNAc), receptores celu-
lares(células sanguíneas A o B, células oncogénicas), etc. Lo sorprendente de --
ello es que se reporta a la LFS como un tetrámero(con 4 sitios de unión disponi-
bles) y en realidad posee en su molécula-como ya se reportó-4 uniones alfa(1 ---
→ 2).

En la página 88 nos hicimos una pregunta que se respondió conforme se avanzó en los temas expuestos en la misma página y algunas subsiguientes. La existencia de los precursores descritos quizás explican el porqué la concanavalina A tiene-afinidad de unión con la LFS, la cual está formada por residuos de D-manosa. El-molde para que la unión se realice lo proporcionan la pre-pro-CON A y la pro-CON A siendo posible que otras lectinas sean sintetizadas de la misma forma; es de-- cir, por pérdida de un glucopéptido que contenga uno o varios sacáridos que también sean de unión específica. Concluiremos aquí, por ejemplo, que la LFS puede-tener como precursores una pre-pro-LFS y una pro-LFS (por analogía con la CON A) que contenían cadenas cortas de péptidos ricos en alfa y beta-D-NAcGal o alfa-D-Gal que son los azúcares de unión específica para la lectina de soya.

En el pie de la figura 26 se refiere que los receptores específicos de los - grupos sanguíneos A o B se unen a la LFS. Por los eritrocitos reaccionarían las-partes reductoras de los azúcares(180) y por la lectina (AFS) lo harían los di-- sacáridos y trisacáridos de uniones alfa-(1 ---→ 2), con lo que se produciría la-aglutinación(10, 14, 15, 156, 162, 163, 165 y 180). En la figura 26 se observa - (parte izquierda) que las once moléculas de lectina (tetravalentes) se adicionan a 12 células que reaccionan reconociendo los azúcares receptores y aglutinan(par te derecha de la reacción). Esta reacción se puede efectuar empleando las 4 va--

lencias o sitios de unión, 199) o empleando dos valencias(ver parte inferior derecha-de la figura 26-donde una molécula se une a una sola célula y en la parte superior se muestra una lectina unida a dos células).

Ya se comentó en las presentes discusiones sobre las substancias promotoras de la aparición y desaparición de lectinas o sea las fitohormonas(ABA, auxinas- y citocininas). ¿Será posible que las giberelinas y el etileno también intervengan para regular la aparición y/o desaparición de lectinas? De esta pregunta sólo puede responderse que de los investigadores aquí consultados ninguno refiere nada al respecto, pero creemos que probablemente sí intervengan en la - mencionada regulación.

Otra cuestión importante y poco tratada por los autores en la materia es la manera en que se inactivan las fitohormonas y las lectinas, ya sea para ser -- trasladadas o bien para el almacén. Al parecer la inactivación -es posible- sea análoga a la forma como se inactiva el ABA; es decir, uniéndose a una molécula- de glucosa para formar el abscisato de glucosa(figura 15, página 57)el cual es- inactivo, otra manera sería como sucede al transformar el ABA en los ácidos faseico y dihidrofaseico donde ambos ácidos son productos de oxidación. También - el ácido indolacético es inactivado al ser oxidado por la AIA-oxidasa.

Antes de finalizar anotaremos ciertos trabajos de investigaciones futuras - empleando lectinas y fitohormonas los que a continuación se describen:

-Uso de lectinas y FH en semillas para incrementar la rapidez del brote de es-- tructuras, acortando el período en que alcanzan su madurez, vencer la latencia- y eliminar la dureza (S) que con frecuencia se presentan en arroz, avena, cebada, etc., para lo cual tendrían que investigarse sus comportamientos empleando- lectinas específicas para cada cultivo así como auxinas (capaces de incrementar el aflojamiento de la pared celular e influir en la elasticidad y plasticidad - de membranas), citocininas (que mantienen la integridad de membranas e inducen-

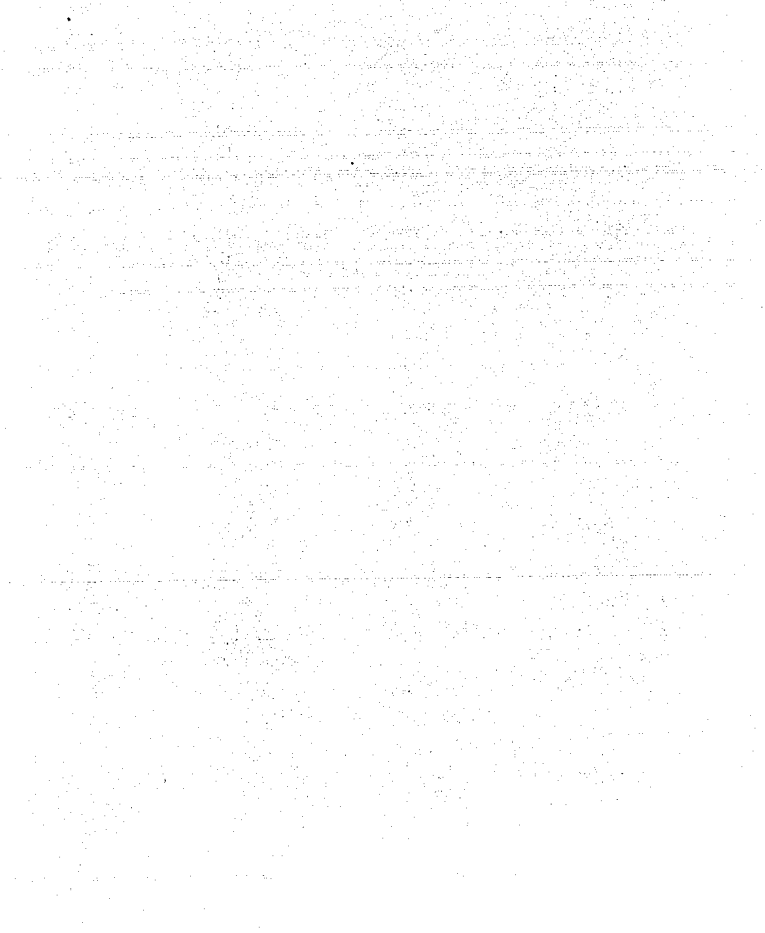
el endurecimiento de la pared celular).

-Algunos enfoques diferentes serían el aprovechamiento de la especificidad de- las lectinas para diferenciar variedades de semillas, sirviendo para la determinación de pureza varietal en apoyo a otras pruebas tales como las de electroforesis (205, 206 y 207), las de glicininas en soya (6), de invernadero y las- de inmunofluorescencia con anticuerpos contra la variedad específica de soya- inducidos en animales de experimentación. Pero, esta última prueba no ha sido- aun aplicada para caracterizar variedades de semillas, siendo posible utilizar esta y otras técnicas inmunológicas que hoy en día solo se aplican a ciertos - sistemas animales pero que pueden muy bien ser empleados para vegetales, tal- y como lo refiere Vodkin (7).

-Otro punto que cabe tratar aquí es el de la aclaración del porqué nos hemos - referido a procesos fisiológicos de ciertos vegetales en particular (soya, canavalia, etc.). Lo que sucede es que en la bibliografía aquí concentrada (procedente de distintas fuentes, sitios y fechas) comúnmente se toca el tema en - relación a cultivos social y económicamente importantes como soya, frijol y trigo. Quede claro entonces que por ser escasa la literatura que generalice los - procesos fisiológicos involucrados con las lectinas y que han sido descritos - en el presente trabajo, hemos tenido que particularizar tomando a la soya como modelo.

-Por último señalamos que es necesario estudiar con mayor profundidad a las -- lectinas y FH desde el punto de vista químico orgánico (estructuralmente), así como obtener más información sobre sus actividades bioquímicas para poder fundamentar las relaciones tanto entre fitohormonas como con lectinas para aclarar cuales son los mecanismos de acción de los procesos: Fitocromo------→ FH - ----→ lectinas; es decir, de que manera el fitocromo controla la producción de-

fitohormonas y a su vez como éstas influyen en el aumento o disminución de lectinas.



Cuadro número I.- Semilla y materia prima de frijol soya, para comparar volúmenes (en kilogramos), fuera de normas (fn) por bajo porcentaje de germinación y dentro de normas de certificación (dn). Las existencias se reportan por categorías salvo la columna donde se indica otras . (208).

C A T E G O R I A S

A.- Semilla

R E G I S T R A D A		C E R T I F I C A D A		V E R I F I C A D A		O T R A S		S U B - T O T A L E S	
dn	fn	dn	fn	dn	fn	dn	fn	dn	fn
1,539,869	1,065,100	4,144,544	3,719,603	4,800	75,732	120	47,956	5,689,333	4,908,391
B.- Materia Prima									
433,707	- o -	1,084,292	6,565	- o -	- o -	-o-	2,425	1,517,999	8,990
						T o t a l e s :		7,207,332	4,917,381

Cuadro número II.- Volúmen (en kilogramos) de frijol soya fuera de normas por bajo porcentaje de germinación, autorizado para baja al mes de Diciembre de 1984.

C A T E G O R I A S

A.- Semilla

R E G I S T R A D A	C E R T I F I C A D A	V E R I F I C A D A	O T R A S	S U B - T O T A L E S
214,284	1,823,259	90,256	9,175	2,136,974
B.- Materia Prima				
- o -	91,947	381,819	283,730	757,496
			T o t a l e s :	2,894,470

BIBLIOGRAFIA.

1.-DELOUCHE JC, STILL TW, RASPET M, LIENHARD M.: Prueba de viabilidad de la semilla con tetrazol. Universidad Estatal de Memphis, Miss., 1971

2.-SOUTHWORTH D.: Lectins stimulate pollen germination. Nature. 258:600-601, 1975

3.-MORENO ME.: Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Instituto de Biología, UNAM, México, D.F., 1984

4.-INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION.: Normas internacionales para el análisis de las semillas. SARH, México, D.F.: 3, 1963

5.-SERVICIO NACIONAL DE INSPECCION Y CERTIFICACION DE SEMILLAS.: Manual de laboratorio para el análisis de semillas certificadas. SAG, México, D.F., 1975

6.-HUGES SA, MURPHY PA.: Varietal influence on the quantity of glicinin in soybeans. J. Agric. Food Chem. 31, 2: 376-379, 1983

7.-VODKIN LO.: Isolation and characterization of messenger RNAs for seed lectin and kunitz trypsin inhibitor in soybeans. Plant Physiol 68: 766-771, 1981

8.-HOWARD IK, SAGE HJ, HORTON CB.: Studies on the appearance and location of hemagglutinins from a common lentil during the life cycle of the plant. Arch. Biochem. Biophys. 149: 323-326, 1972

9.-KAHRE L, BEKENDAM J, GROB R.: Manual para la evaluación de plántulas en análisis de germinación. ISTA-Instituto Nacional de semillas y plantas de vivero, España, 1978

10.-SHARON N, LIS H.: Lectins: cell-agglutinating and sugar-specific proteins. Science. 177, 4053: 949-959, 1972

11.-BOYD WC, SHAPLEIG E.: Specific precipitating activity of plants agglutinins (lectins). Science. 119: 419, 1954

12.-BLANQUEZ A.: Diccionario latino-español y español-latino. Editorial Ramón Sopena, S.A., Barcelona, 1953

13.-SMITH DT, CONANT NF, WILLET HP, AMOS DB, LARSH JE, FLANAGAN JF, DAY ED, OSTERHOUT S, BUCKLEY RH, ZMIJEWSKY CHM, GLASSMAN E, SHARP DG, HUNTER GC, CRAWFORD JJ, BUCKLEY CE, BOYLE W, BURNS RO, WHEAT RW.:Microbiología de Zinsser. Editorial UTHEA, México, D.F.: 251-253, 285-290, 1971

14.-GOLDSTEIN IJ, HAYES CE.: The lectins: Carbohydrate-binding proteins of plants and animals. Adv. Carb. Chem.: 128-158, 190, 196, 226, 231, 239, 243, 250, 334 340, 1978

15.-GOLDSTEIN IJ.: Lectins: Their nature and application. Miles lab., Inc.: 5-8, 1979

16.-JONES JM, CAWLEY LP, TERESA GW.: The lectins of Maclura pomifera:Zimografic studies, distribution in the developing plant and production in tissue cultures of epicotyles. J. Immun. 98, 2: 364-367, 1967

17.-KILPATRICK DC.: Purification and some properties of a lectin from the fruit juice of the tomato(Lycopersicon esculentum). Biochem. J. 185: 269-272, 1980

18.-BOWLES DJ.: El enigma de las lectinas. Mundo científico. 17: 85-86, 1982

19.-REMOLINA MT, NAVA AP.: Obtención de una lectina a partir del caracol de jardín Helix aspersa. Ciencia y Desarrollo. 47: 178-183, 1982

20.-LEVINE D, KAPLAN MJ, GREENAWAY PJ.: The purification and characterization of wheat-germ agglutinin. Biochem. J. 129: 847-856, 1972

21.-Tomados de las referencias 13 y 14:
KRUPE M.: Blutgruppenspezifische pflanzliche eiweisskorper(Rhytagglutinine). Stuttgart, Ferdinand Enke Verlag, 1966

TOBISKA J.: Die phythamagglutinine. Berlin Akademis -Verlag, 1964

22.-MIRELMAN D.: Inhibiton of fungal growth by wheat germ agglutinin. Nature. 256: 414-416, 1975

23.-DESJARDINS AE, LORRAINE MR, SPELLMAN MW, DARVILL AG, ALBERSHEIM P.: Host-patogen interactions biological variation in the protection of soybeans from infection by Phytophtora megasperma F. sp. Glycinea. Plant Physiol. 69: 1046-1050, 1982

24.-YOSHIKAWA M, MASAYOSHI M, MASAGO H.: Release of a soluble phytoalexin elicitor from mycelial walls of Phytophtora megasperma var. sojae by soybean tissues. Plant Physiol. 67: 1032-1035, 1981

25.-HILL JB, OVERHOLTS LO, POPP HW, GROVE AR.:Tratado de botánica. Editorial Omega, S.A., Barcelona.: 46, 322-339, 348-350, 698, 1964

26.-FINN GA, BRUN WA.:Effect of atmospheric CO_2 enrichment on growth, nonstructural carbohydrate content and root nodule activity in soybean. Plant -- Physiol. 69: 327-331, 1982

27.-DOMMERGUES Y, DREYFUS B, GIA HD, DUHOUX E.: Fijación del nitrógeno y agricultura tropical. Mundo Científico. 45, 5 : 276-285, 1985

28.-BEDMAR EJ, OLIVARES J.: Limitaciones de la fijación biológica de nitrógeno. Investigación y Ciencia. 65: 26-34, 1982

29.-BRANDNER-CRAFTS SJ, HARPER JE.: Nitrate reduction by roots of soybean(Glycine max L. Merr.)Seedlings. Plant Physiol. 69: 1298-1303, 1982

30.-STREETER JG.: Synthesis and accumulation of nitrite in soybean nodules supplied with nitrate. Plant Physiol. 69: 1429-1434, 1982

31.-BOYD WC, EVERHART DL, Mc MASTER MH.: The anti-N-lectin of Bahuinia purpurea. J. Immun. 81: 414-418, 1958

32.-MAKELA O.: A method for distinguishing between alfa-and-beta-glycosides by the use of plant haemagglutinins(lectins). Nature. 184,4680: 111-113, 1959

33.-THOMSON WAR, SCHULTES RE, KNEFELI U, BOSSARD E, VONARBURG B, DAEMS WF, - LANDOLT E, STEGER T.: Guía práctica ilustrada de las plantas medicinales. Editorial Blume, S.A., Barcelona, 1980

34.-ESCOBAR R.:Enciclopedia agrícola y de conocimientos afines. SARH, México, D.F.: I, II, III, IV. A-Z, 1981

35.-GATEHOUSE JA, GILROY J, HOQUE MS, CROY RD.: Purification properties of a low-Mr abundant seed protein of pea(Pisum sativum L.). Biochem. J. 225,1: 239-247, 1985

36.-CAVALIERI AJ, BOYER JS.: Water potentials induced by growth in soybean hypocotyls. Plant Physiol. 69: 492-496, 1982

37.-MORRISON RT, BOYD RN.:Organic chemistry. 2a. Ed. Published by Allyn and Bacon, Inc., Boston, 1972

38.-LEHNINGER AL.: Bioquímica. 4a. Ed. Editorial Omega, S.A.,Barcelona, 1974

39.-RAKOFF H, ROSE NC.:Química orgánica fundamental. 1a. Ed. Editorial Limusa--Wiley, S.A., México, D.F., 1971

40.-FUDENBERG HH, STITEZ DP, CALDWELL JL, WELLS VJ.: Manual de inmunología clínica. 2a. Ed. Editorial El Manual Moderno,S.A., México, D.F., 1980

41.-COTTON FA, WILKINSON G.:Química inorgánica avanzada. 1a. Ed. Editorial Limusa-Wiley, S.A., México, D.F., 1971

42.-BARGALLO M.: Tratado de química inorgánica. 1a. Ed. Editorial Porrúa, S.A., México, D.F., 1972

43.-GRAY HB, HAIGHT GP.:Principios básicos de química. Editorial Reverté, S.A., Barcelona, 1969

44.-POTAPOV VM, TATARINCHIK SN.: Química orgánica. 2a. Ed. Editorial MIR, Moscú, 1983

45.-CANTAROW A, SCHEPARTZ B.: Bioquímica. 4a. Ed. Editorial Interamericana, S.A. México, D.F.,1969

46.-BERKOWITZ RL, TRAVIS RL.: Characterization and quantitation of concanavalin A binding by plasma membrane enriched fractions from soybean root. Plant - Physiol. 68: 1014-1019, 1981

47.-BERKOWITZ RL, TRAVIS RL.: A comparative evaluation of the enriched plasma - membrane fraction from developing soybeans roots. Plant Physiol.69: 379-384 1982

48.-LIRA IM, DE LA CRUZ VE, NAVARRO FM.: La producción y certificación de semilla de soya en México. SNICS-SAG, México, D.F., 1975

49.-SALISBURY FB, ROSS CW.: Plant physiology. 2a. Ed. Wadsworth Pub. Co., Inc.-Belmont, Calif., 1978

50.-THORNE JH.:Morphology and ultraestructure of maternal seed tissues of soy--bean in relation to the import of photosynthate. Plant Physiol. 67: 1016---1025, 1981

51.-DUKE SH, KAKEFUDA G.: Role of the testa in preventing cellular rupture du--ring imbibition of legume seeds. Plant Physiol. 67: 449-456, 1981

52.-ROSE AH.: Microbiología química. 2a. Ed. Editorial Alhambra, S.A., Madrid,-1977

53.-GOUNARIS K, BARBER J, HARWOOD JL.: The tylacoid membranes of higher plant - chloroplasts. J. Biochem. 237,2: 313-326, 1986

54.-ALLEN JF, FINDLAY JBC.:Aminoacid composition of the 9kDa phosphoprotein of-pea thylakoids. Biochem. and Biophys. Res. Comm.138,1:146-152, 1986

55.-JENINGS RC, GEROLA PD, GARLASCHI FM, GIORGIO F.: Effects of trypsin and cations on chloroplast membranes. Plant Physiol. 67: 212-215, 1981

56.-JOYARD J, STUMPF PK.:Syntesis of long-chain acyl-CoA in chloroplast envelope membranes. Plant Physiol. 67: 250-256, 1981

57.-HUBER SC, ISRAEL WD.:Biochemical basis for partitioning of photosynthetically fixed carbon between starch and sucrose in soybean(Glycine max Merr.)--leaves. Plant Physiol. 69: 691-696, 1982

58.-CLOUGH JM, PEET MM, KRAMER PJ.: Effects of high atmospheric CO_2 and sink size on rates of photosynthesis of a soybean cultivar. Plant Physiol. 67: 1007-1010, 1981

59.-CHATTERTON JN, SILVIUS JE.: Photosynthate partitioning into starch in soybean leaves. Plant Physiol. 67: 257-260, 1981

60.-BOWLES DJ, KAUSS H.: Carbohydrate-binding proteins from cellular membranes--of plant tissue. Plant Science Letters. 4: 411-418, 1975

61.-SHARON N, LIS H.: Glycoproteins: Research booming on long-ignored, ubiquitous compounds. News C and En. 13,59: 21-44, 1981

62.-FAYE L, STURM A, BOLLINI R, VITALE A, CHRISPEELS M.: The position of the oligosaccharide side-chains of phytohemagglutinin and their accesibility to glycosidases determines their subsequent processing in the Golgi. FEBS Eur. J.-Biochem. 158, 3: 655-661, 1986

63.-CHRISPEELS MJ, VITALE A, STASWICK P.: Gene expression and synthesis of phytohemagglutinin in the embrionic axes of developing Phaseolus vulgaris seeds. Plant Physiol. 76,3: 791-796, 1984

64.-HERMAN EM, SHANNON ML.: Accumulation and subcellular localization of alfa-galactosidase-hemagglutinin developing soybean cotyledons. Plant Physiol. 77,4 886-890, 1985

65.-SZUMILO T, KAUSHAL GP, HORI H, ELBEIN A.: Purification and properties of a -glycoprotein processing alfa-manosidase from mung bean seedlings. Plant Physiol. 81,2: 383-389, 1986

66.-CAMMUE B, STINSSEN HM, PEUMANS WJ.: Lectin in vegetative tissues of adult barley plants grown under field conditions. Plant Physiol. 78,2: 384-388,1985

67.-HARLEY SM, BEEVERS H.: Lectins in Castor bean seedlings. Plant Physiol. 80,1 1-6, 1986

68.-PEUMANS WJ, DE LEY M, STINISSEN HM, BROEKAERT WF.:Isolation and partial characterization of a new lectin from seeds of the greater celandine(Chelidonium majus). Plant Physiol. 78,2: 380-383, 1985

69.-KERR PS, RUFTY TW, HUBER SC.: Changes in nonstructure carbohydrates in different parts of soybean(Glycine max L. Merr.) plants during a light/dark cycle and in extended darkness. Plant Physiol. 78,3: 576-581, 1985

70.-JAMES DW, GHOSH M, ETZLER ME.: Production of a lectin in tissue cultures of-Dolichus biflorus. Plant Physiol. 77,3: 630-634, 1985

71.-BOR-FUEI H, RODAWAY SJ, WOOD A,MARCUS A.:RNA synthesis in germinating embryonic axes of soybean and wheat. Plant Physiol. 65: 1155-1159, 1980

72.-WATSON JD.: Biología molecular del gen. 3a. Ed. Editorial Fondo Educativo Interamericano, S.A., Madrid, 1978

73.-GARDNER EJ.: Principios de genética. 5a. Ed. Editorial Limusa-Wiley, S.A., -México,D.F., 1980

74.-AVERS CHJ.: Genetics. Rev. Ed. Published by D. van Nostrand Co., New York, -1980

75.-GALSTON A.: The life of the green plant. 3a. Ed. Published by Prentice Hall-Inc., USA, 1980

76.-BIDWELL RG.: Plant physiology. 2a. Ed. Published by Mc Millan Pub. Co. Inc., New York, N.Y., 1979

77.-BILYK A, SAPERS GM.: Distribution of quercetin and kaempferol in lettuce, kale chive, leek, horse radish, red radish and red cabbage tissues. J. Agric. Food-Chem. 33,2: 226-228, 1985

78.-PONNAMPALAM R, MONDY NI.:Effect of foliar application of indoleacetic acid on-the total glycoalkaloids and nitrate nitrogen content of potatoes. J. Agric. - Food Chem.34,4: 686-688, 1986

79.-BLESCHSCHMIDT S, CASTEL U, GASKIN P, HEDDEN P, GRAEBE JE, Mc MILLAN J.:GC/MS - Analysis of the plant hormones in seeds of Cucurbita maxima. Phytochemstry.23, 3: 553-558, 1984

80.-PILLET PE.: Some aspects of the control of root growth and georeaction: the involvement of indoleacetic acid. Plant Physiol. 67: 1047-1050, 1981

81.-Mc GAW BA, HORGAN R, HEALD JK.: Cytokinin metabolism and the modulation of cytokinin activity in radish. Phytochemstry. 24,1: 9-13, 1985

82.-CHEN CM1, KRISTOPEIT SM.: Metabolism of cytokinin. Plant Physiol. 67: 494-498, 1981

83.-LEE YH, MOK MC, MOK DWS, GRIFFIN DA, SHAW G.: Cytokinin metabolism in Phaseo-- lus embryos. Genetic difference and the ocurrence of novel zeatin metabolites. Plant Physiol. 77,3: 635-641, 1985

84.-MILLER CO.: Cytokinin modification of mitochondrial function.Plant Physiol. 69: 1274-1277, 1982

85.-CHATFIELD JM, ARMSTRONG DJ.: Regulation of cytokinin oxidase activity in callus tissues of Phaseolus vulgaris L. cv. great northern. Plant Physiol. 80,2: 493-- 499, 1986

86.-AL-KHATIB K, PAULSEN GM.: Use of growth regulators to control senescence of whe at a different temperatures during grain development. J. Agric. Food Chem. 33,5: 866-870, 1985

87.-BARTHE GA, STEWART I.: Enzyme immunoassay (EIA) of endogenous cytokinins in citrus. J. Agric. Food Chem. 33,2: 293-297, 1985

88.-FLETCHER RA, KALLIDUMBIL V, STEELE P.: An improved bioassay for cytokinins --- using cucumber cotyledons. Plant Physiol. 69: 675-677, 1982

89.-DE LA SERVE BT, AXELOS M, LENOEL P.:Cytokinins modulate the expression of genes encoding the protein of the light harvesting chlorophyll a/b complex. Plant Molecular Biology. 5,3: 155-163, 1985

90.-BOA FG, Mc DONELL EM, WILKINSON MC, LAIDMAN DL.: Free sterols and glycolipids - in the aleurone tissue of germinating wheat . Phytochemstry. 23,3: 519-524, --- 1984

91.-GONZALEZ E, DEL SOL MA.: Induction of glyconeogenic enzymes by gibberelin A_3 in endosperm of Castor bean seedlings. Plant Physiol. 67: 550-554, 1981

92.-ZWAR JA, HOOLEY R.: Hormonal regulation of alfa-amilasa gene transcription in - Wild oat (Avena fatua L.) aleurone protoplasts. Plant Physiol. 80,2: 459-463, - 1986

93.-MARKHART AH.: Penetration of soybean root systems by abscisic acid isomers. Plant Physiol. 69: 1350-1352, 1982

94.-MICHLER CHH, LINDERBERGER DR, CHISM GW.: A highly sensitive method for quantitative of abeisic acid. Plant Physiol. 82,2: 534-542, 1986

95.-BRAY EA, BEACHY RN.: Regulation by ABA of beta conglicinin expression in cultured developing soybean cotyledons. Plant Physiol. 79,3: 746-750, 1985

96.-HARRIS MJ, DUGGER WM.: The ocurrence of abscisic acid and abscisyl-beta-D-glyco piranoside in developing and mature citrus fruit as determined by enzyme immuno assay. Plant Physiol. 82,2: 543-547, 1986

97.-SETTER TL, BRUN WA.: Abscisic acid translocation and metabolism in soybeans fo llowing deppoding and petiole girdling treatments. Plant Physiol. 67: 774-779,- 1981

98.-FISCUS EL, STERMITZ FR, AMOROS LG.: Abscisic acid transport coefficients of Pha seolus root systems Plant Physiol. 69: 1353-1355, 1982

99.-KONDO K, SUGIMOTO T, SAIO K.: Changes in storage protein components of develo-- ping soybean seeds(Glycine max) Agric. Biol. Chem.50,3: 581-587, 1986

100.-ADKINS SW, ROSS JD.: Studies in wild oat seed dormancy. I. The role of ethylene in dormancy breakage and germination of wild oat seeds(Avena fatua L.).Plant -- Physiol. 67:358-362, 1981

101.-WHEELER RM, WHITE RG, SALISBURY FB.: Gravitropism in higher plants shoots. Furt her studies on participation of ethylene. Plant Physiol. 82,2: 534-542, 1986

102.-ZURFLUH LL, GUILFOYLE TJ.: Auxin-and ethylene-induced changes in the population of translatable messenger RNA in basal sections and intact soybean hipocotyl. Plant Physiol. 69: 338-340, 1982

103.-ZURFLUH LL, GUIFOYLE TJ.: Auxin induced changes in the population of translata- ble messenger RNA in elongating sections of soybean hipocotyl. Plant Physiol. - 69: 332-337, 1982

104.-BISCHLER H.: Marchantia L. The new world species. Bryoph. Bibl. 26: 1-137, 1984

105.-ANDREWS HN.: Algunos avances recientes en nuestros conocimientos sobre las Pte- ridofitas y la evolución primitiva de las gimnospermas. Depto. Bot. Universidad de Connecticut. 134-157, 1982

106.-SCHUSTER RM.: Reproductive biology, dispersal mechanisms, and distribution in - Hepaticae and anthocerotae. Sonderb. Naturwiss. Ver. Hamburgo. 7: 119-162, 1983

107.-GOMEZ LD.: The origin of the Pteridophyte flora of Central America. Ann. Missou ri Bot. Gard. 69: 548-555, 1982

108.-GRADSTEIN SR, POCS T, VANA J.: Disjunct Hepaticae in tropical America and Afri- ca. Acta Bot. Hungarica. 29,1-4: 127-171, 1983

109.-SUTHERLAND WJ, WATKINSON AR.: Do plants evolve differently? Nature. 320,6060: - 305, 1986

110.-ARREDONDO R.:Los mecanismos para evaluar la evolución a nivel bioquímico. Bol.- Educ. Bioquim. IV, 2: 40-46, 1985

111.-STEBBINS GL, HILL GJ.: Did plants invade the land? Am. Nat. 115: 342-353, 1980-

112.-CRAWFORD TJ.: The estimation of neighbourhood parameters for plant populations. Heredity. 52,2: 273-283, 1984

113.-SOLBRIG OT.: Demography and evolution in plants populations. The Alden Press. - Oxford.1: 1-21, 1980

114.-ABDUL AA.: Biochemical aspects of seed vigor. Hort.Science. 15,6: 765-771, 1980

115.-DICKSON MH.: Genetic aspects of seed quality. Hort. Science. 15,6: 771-774,1980

116.-ROOS EE.: Physiological, biochemical and genetic changes in seed quality during storage. Hort Science. 15,6: 781-783, 1980

117.-DELOUCHE JC.: Environmental effects on seed development and seed quality. Hort. Science. 15,6: 775-780, 1980

118.-WOODSTOCK LW, TAYLORSON RB.:Ethanol and acetaldehyde in imbibing soybean seeds in relation to deterioration. Plant Physiol. 67: 424-428, 1981

119.-JORDAN DB, OGREN WL.: A Sensitive assay procedure for simultaneous determination of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and oxygenase activities. --- Plant Physiol. 67: 237-245, 1981

120.-KNOWLES LO, KENNEDY RA.: Lipid biochemstry of Echinochloa crus-galli during-anaerobic germination. Phytochemstry. 23,3: 529-532, 1984

121.-CARRE B, BRILLOUET JM, THIBAULT JF.: Characterization of polysaccharides --- from white lupin(Lupinus albus L.) cotyledons. J. Agric. Food Chem. 33,2: - 285-292, 1985

122.-GLENNIE CW, LIEBENBERG NV.: Endosperm modification in germinating shorgum -- grain. Cereal Chemistry. 60,1: 27-31, 1983

123.-GIFFORD DJ, GREENWAY JS, BEWLEY D.: Deposition of matrix and cristalloid --- storage proteins during protein body development in the endosperm of Ricinus communis L. cv. Hale seeds. Plant Physiol. 69: 1471-1478, 1982

124.-LUNGARD R, BALSTED D.: Secretion of a lipolytic protein aggregate by barley-aleurone and its dissociation by starch endosperm. Arch. Biochem. and Biophys. 249, 2: 447-454, 1986

125.-BAHL OP, AGRAWAL KML.: Glycosidases of Phaseolus vulgaris. II.-Isolation and general properties. J. Biol. Chem. 243,1: 103-111, 1968

126.-BAHL OP, AGRAWAL KML.: Glycosidases of Phaseolus vulgaris. II.-Isolation and characterization of beta-N-acetilglucosaminidase. J. Biol. Chem.243, 1: 98-- -102, 1968

127.-GREY JE, BRYAN T.: Changes in the activity of poly(adenosine diphosphate ribose) polymerase during germination of pea. Phytochemstry. 23,3: 477-478, -- 1984

128.-STEVEN PP, PUEPPKE SG.: Soybean lines lacking the 120,000-Dalton seed lectin. Science. 200: 1277-1279, 1978

129.-HALVERSON LJ, STACEY G.: Host recognition in the Rhizobium-soybean symbiosis. Detection of a protein factor in soybean root exudate wich is involved in -- the modulation process. Plant Physiol. 74, 1: 84-89, 1984

130.-HALVERSON LJ, STACEY G.: Host recognition in the Rhizobium-soybean symbiosis. Evidence for the involvement of lectin in nodulation. Plant Physiol. 77,3: 621-625, 1985

131.-PRESTON C, PRESTON JM.: Proton nuclear magnetic resonance studies of soybean lectin-monosaccharide interactions: computer analysis of complex binding behavior. Arch. Biochem. and Biophys. 249, 2: 447-454,1986

132.-NEWBURG DS, CONCON JM.: Lectins in rice and corn endosperm. J. Agric. Food-Chem. 33,4: 685-687, 1985

133.-VERMA DPS, FORTIN MG, STANLEY J, MAURO VP, PUROHIT S, MORRISON N.: Nodulins and nodulin genes of Glycine max. Plant Molecular Biology. 7,1: 51-61, 1986

134.-WILLIAMS LE, DEJONG TM, PHILLIPS DA.:Effect of changes in shoot carbon-ex--- change rate on soybean root nodule activity. Plant Physiol. 69: 432-436, --- 1982

135.-HASHIZUME T, DOI J, SUGIYAMA T.: Mass spectometric determination of endoge-- nous cytokinins of azolla. Agric. Biol. Chem. 50,4: 1035-1038, 1986

136.-INCHAROENSAKDI A, TAKABE T, TAKABE T, AKAZAWA T.: Isolation of the catalytically competent small subunit of ribulose bisphosphate carboxylase oxygenase --- from spinach under extremely alkaline condition. Biochem. and Biophys. Res. -- Comm. 138,1: 118-124, 1986

137.-ARREDONDO R.: La hemoglobina, una globina vegetal. Bol. Educ. Bioquim. II,3: - 3-7, 1983

138.-ROBERTS MP, SAJIDA J, MULLIN BC.: Leghemoglobin-like sequences in the DNA of - four actinorhizal plants. Plant Molecular Biology. 5,3: 333-337, 1985

139.-REYNOLDS PHS, BOLAND MJ, BLEVINS DG, SCHUBERT RK, RANDALL DD.: Enzymes of amide and ureide biogenesis in developing soybean nodules. Plant Physiol. 69: --- 1334-1338, 1982

140.-WYNER LM, RAINS W.: Simultaneous measurement of NH_4^+ absorption and N_2 fixation by Glycine max. Plant Physiol. 69: 460-464, 1982

141.-RAO LVM, NEERAJ D, MAHADEVAN M, MUKHERJEE SG, SOPORY SK.: Influence of citokinins and phytochrome on nitrate reductase activity in etiolated leaves of maize. Phytochemistry. 23, 9: 1875-1879, 1984

142.-POLACCO JC, THOMAS AL, BLEDSOE PJ.: A soybean seed urease-null produces urease in cell culture. Plant Physiol. 69: 1233-1240, 1982

143.-THOMAS RJ, SCHRADER LE.: The assimilation of ureides in shoot tissues of soy-- beans.Plant Physiol. 67: 973-976, 1981

144.-BORREBAECK CA, LINSEFORS L.: Hormonal regulation of the lectin biosynthesis in callus culture of Phaseolus vulgaris. Plant Physiol. 79,3: 659-662, 1985

145.-LIANG LS, TUAN DH.: Mode of action of abscisic acid in barley aleurone layers. Induction of new proteins by abscisic acid. Plant Physiol. 82,1: 289-297, 1986

146.-RAIKHEL NV, PALEVITZ BA, HAIGLER CH.: Abscisic acid control of lectin accumulation in wheat seedlings and callus cultures. Effects of endogenous ABA and --- fluoridone. Plant Physiol. 80,1: 167-171, 1986

147.-LIS H, SHARON N, KATCHALSKI E.: Soybean hemagglutinin, a plant glycoprotein.I. Isolation of a glycopeptide. J. Biol. Chem. 241,3: 684-689, 1966

148.-LIENER IE, PALLANSCH MJ.: Purification of a toxic substance from defatted soybean fluor. J. Biol. Chem. 197: 29-36,1952

149.-LIS H, SHARON N.: Soybean agglutinin-a plant glycoprotein. Structure of the- carbohydrate unit. J. Biol. Chem. 253,10: 3468-3476, 1978

150.-SKOKUT TA, VARNER JE, SCHAEFER J, STEJSKAL EO, Mc KAY RA.: (^{15}N) NMR determination of asparagine and glutamine nitrogen utilization for synthesis of storage protein in developing cotyledons of soybean in culture. Plant Physiol. 69: 308 -313, 1982

151.-SKOKUT TA, VARNER JE, SCHAEFER J, STEJSKAL EO, Mc KAY RA.: (^{15}N-and-^{13}C) NMR determination of utilization of glycine for synthesis of storage protein in the- presence of glutamine in developing cotyledons of soybean. Plant Physiol. 69:- 314-316, 1982

152.-LOTAN R, SIEGELMAN HW, LIS H, SHARON N.:Subunit structure of soybean aggluti-- nin. J. Biol. Chem. 294,4: 1219-1224, 1974

153.-GATEHOUSE JA , BOUTLER D.: Seed protein construction. Nature. 313, 5997:13,-- 1985

154.-CARRINGTON DM, AUFFERT A, HANKE DE.: Polypeptide ligation ocurrs during post-- -translational modification of concanavalin A. Nature. 313, 5997: 64-67, 1985

155.-CHRISPEELS MJ, HARTL PM, STURM A, FAYE L.: Characterization of the endoplasmic reticulum-associated precursor of concanavalin A. J. Biol. Chem. 261,22: 10021-10024, 1986

156.-AGRAWAL BBL, GOLDSTEIN IJ.: Protein-carbohydrate interaction. VI. Isolation of concanavalin A by specific adsorption on cross-linked dextran gels. Biochim. - Biophys. Acta. 147: 262-271, 1967

157.-PEREZ G.: Isolation and characterization of a lectin from the seeds of Erythrina edulis. Phytochemistry. 23,6: 1229-1232, 1984

158.-STUBBS ME, CARVER JP, DUNN RJ.: Production and pea lectin in Escherichia coli. J. Biol. Chem. 261, 4: 6141-6144, 1986

159.-ROBERTS DD, GOLDSTEIN IJ.: Hidrophobic binding properties of the lectin from-lima beans (Phaseolus lunatus). J. Biol. Chem. 257,19: 11274-11277, 1982

160.-SHIBUYA N, GOLDSTEIN IJ, SHAFER JA, PEUMANS WJ, BROEKAERT WF.: Carbohydrate -- binding properties of the stinging nettle (Urtica dioica) rhizome lectin. Arch. Biochem. and Biophys. 249,1: 215-224, 1986

161.-SWAMY MJ, SASTRY MVK, KHAN MI, SUROLIA A.: Thermodynamic and kinetic studies-on saccharide binding to soya-bean agglutinin. Biochem. J.234,3:515-522, 1986

162.-SO LL, GOLDSTEIN IJ.: Protein-carbohydrate interaction.IV. Application of the-quantitative precipitin method to polysaccharide-concanavalin A interaction. - J. Biol. Chem. 242,7: 1617-1622, 1967

163.-AGRAWAL BBL, GOLDSTEIN IJ.: Specific binding of concanavalin A to cross-linked dextran gels. J. Biochem. 96: 23c-25c, 1965

164.-ALLEN AK, NEUBERGER A.: A simple method for the preparation of an affinity abs orbent for soybean agglutinin galactosamine and CH-sepharose. FEBS Letters. 50, 3: 362-364, 1975

165.-OCHOA JL.: Aglutininas vegetales. Bol. Educ. Bioquim. II, 3: 13-17, 1983

166.-BROWN JM, LEON MA, LIGHTBODY JJ.: Isolation of a human lymphocyte mitogen from wheat germ with N-acetyl-D-glucosamine specificity. J. Immun. 117,5: 1976-1980, 1976

167.-BOLDT DH, LYONS RD.: Fractionation of human lymphocytes with plant lectins. II. Lens culinaris lectin and wheat germ agglutinin identify distinct lymphocyte - subclasses. J. Immun. 123, 2: 808-816, 1979

168.-BAUES RJ, GRAY GR.: Lectin purification on affinity columns containing reductively aminated disaccharides. J. Biol. Chem. 232,1: 57-60, 1977

169.-STEAD RH, MUELENAERE HJ, QUICKE GV.: Trypsin inhibition, hemagglutination and intraperitoneal toxicity in extracts of Phaseolus vulgaris and Glycine max. -- Arch. Biochem. Biophys. 113: 703-708, 1966

170.-SCHAEFER RL, KELLER KF, DOYLE RJ.: Lectins in diagnostic microbiology: use of-wheat germ agglutinin for laboratory identification of Neisseria gonorrhoeae.- J. Clin. Microbiol. 10,5: 669-672, 1979

171.-HEWITT AT, ELMER WA.: Developmental modulation of lectin-binding sites on the-surface membranes of normal and brachypod mouse limb messenchymal cells. Differentiation. 10: 31-38, 1978

172.-GOLDSTEIN IJ.: N-acetyl-D-glucosamine-binding lectins Qualityline. Miles Lab., Inc. 4: 1-5, 1980

173.-KOJIMA K, SATO CH, NISHIZAWA K, SHIMIZU S.: Concanavalin A induced decrease in cell surface charge and its modification by sulfhydryl blocking agents. Cell.- Struct. Fun. 2: 195-201,1977

174.-INBAR M, SACHS L.: Structural difference in sites on the surface membrane of normal and transformed cells. Nature. 223: 710-712, 1969

175.-VLODAVSKY I, INBAR M, SACHS L.: Membrane changes and adenosine triphosphate-content in normal and malignant transformed cells. Procs. Nat. Acad. Sci. 70, 6: 1780-1784, 1973

176.-BREWER CF, BHATTACHARYYA L.: Specificity of concanavalin binding to asparagine-linked glycopeptides. J. Biol. Chem. 261,16:7306-7310, 1986

177.-LEHRMAN MA, HALTINWANGER RS, HILL RL.: The binding specificity of the rat liver fucose lectin. J. Biol. Chem. 261,16: 7426-7432, 1986

178.-DEY PM.: Ocurrence of glycoprotein glycosidases in mature seeds of mung bean (Vigna radiata). Phytochemstry. 23,2: 257-260, 1984

179.-LEFFLER H, BARONDES S.: Specificity of binding of three soluble rat lung lectins to substitued and unsubstitued mammalian beta-galactosidases. J. Biol. Chem. 261,22: 10119-10126, 1986

180.-ZENTENO E, PARRA C, RAYON I, MONTAÑO LF.: Las lectinas una herramienta de la biología molecular . Bol. Educ. Bioquim. III,4: 17-22, 1984

181.-CAMPILLO E, SHANNON LM.: An alfa-galactosidase with hemagglutinin properties from soybean seeds. Plant Physiol. 69: 628-631, 1982

182.-PILLER V, PILLER F, CARTRON JP.: Isolation and characterization of an N-acetylgalactosamine specific lectin from Salvia sclarea seeds. J. Biol. Chem. - 261,30: 14069-14075, 1986

183.-AGGARWAL BB, TRAQUINA PR, EESSALU TE.: Modulation of receptors and cytotoxic response of tumor necrosis factor alfa by various lectins. J. Biol. Chem. - 261,29: 13652-13656, 1986

184.-SASTRY MVK, BANARJEE P, PATANJALI RS, SWAMY JM, SWARNALATHA GV, SUROLIA A.:- Analysis of saccharide binding to Artocarpus integrifolia lectin reveals - specific recognition of T-antigen (beta-D-gal(1 ---→ 3)-D-Gal NAc). J. Biol.- Chem. 261,25: 11726-11733, 1986

185.-AL-AHDAL MN, ABIDI TF, FLANAGAN TD.: The interaction of sendai virus glycoprotein bearing recombinant vesicles with cell surfaces. Biochim. Biophys. - Acta. 854,2: 157-168, 1986

186.-BUFFINGTON CK, EL-SHIEKH T, KITABICHI AE, MATTERI R.: Phytohemagglutinin - (PHA) activated human T limphocytes: concomitant appareance of insulin binding, degradation and insulin mediated activation of piruvate dehydrogenase-(PDH). Biochem. Biophys. Res. Commun. 134,1: 412-419, 1986

187.-WASSEF NM, ALVING CR.: Phosphatidyl inositol liposomes opsonized by concanavalin A stimulate phosphatidyl inositol turnover in macrophages. Biochem. - Biophys. Res. Comm. 138,3: 1090-1098, 1986

188.-WHITNEY PL, POWELL JT, SANFORD GL.: Oxidation and chemical modification of - lung beta-galactosidase specific lectin J. Biochem. 283,3: 683-689, 1986

189.-ROBERTS GP, BRUNT J.: Differentiation-related changes in glycoprotein synthesis by human keratinocytes. 237,2: 519-525, 1986

190.-KING IA, TABIOWO A, POPE FM.: A lectin-binding glycoprotein of Mr 135000 - associated with basal keratinocytes in pig epidermis. J. Biochem. 237,2: 405 -414, 1986

191.-KARSENTI E, BORNENS M, AVRAMEAS S.: Stimulation and inhibition of DNA synthesis in rat thymocytes: action of concanavalin A and wheat germ agglutinin.- Eur. J. Immunol. 5: 73-76, 1975

174.-INBAR M, SACHS L.: Structural difference in sites on the surface membrane of normal and transformed cells. Nature. 223: 710-712, 1969

175.-VLODAVSKY I, INBAR M, SACHS L.: Membrane changes and adenosine triphosphate-content in normal and malignant transformed cells. Procs. Nat. Acad. Sci. 70, 6: 1780-1784, 1973

176.-BREWER CF, BHATTACHARYYA L.: Specificity of concanavalin binding to asparagine-linked glycopeptides. J. Biol. Chem. 261,16:7306-7310, 1986

177.-LEHRMAN MA, HALTINWANGER RS, HILL RL.: The binding of fucose containing glycoproteins by hepatic lectins. The binding specificity of the rat liver fucose lectin. J. Biol. Chem. 261,16: 7426-7432, 1986

178.-DEY PM.: Ocurrence of glycoprotein glycosidases in mature seeds of mung bean (Vigna radiata). Phytochemstry. 23,2: 257-260, 1984

179.-LEFFLER H, BARONDES S.: Specificity of binding of three soluble rat lung lectins to substitued and unsubstitued mammalian beta-galactosidases. J. Biol. Chem. 261,22: 10119-10126, 1986

180.-ZENTENO E, PARRA C, RAYON I, MONTAÑO LF.: Las lectinas una herramienta de la biología molecular . Bol. Educ. Bioquim. III,4: 17-22, 1984

181.-CAMPILLO E, SHANNON LM.: An alfa-galactosidase with hemagglutinin properties from soybean seeds. Plant Physiol. 69: 628-631, 1982

182.-PILLER V, PILLER F, CARTRON JP.: Isolation and characterization of an N-acetylgalactosamine specific lectin from Salvia sclarea seeds. J. Biol. Chem. 261,30: 14069-14075, 1986

183.-AGGARWAL BB, TRAQUINA PR, EESSALU TE.: Modulation of receptors and cytotoxic response of tumor necrosis factor alfa by various lectins. J. Biol. Chem. 261,29: 13652-13656, 1986

184.-SASTRY MVK, BANARJEE P, PATANJALI RS, SWAMY JM, SWARNALATHA GV, SUROLIA A.: Analysis of saccharide binding to Artocarpus integrifolia lectin reveals specific recognition of T-antigen (beta-D-gal(1 ---> 3)-D-Gal NAc). J. Biol. Chem. 261,25: 11726-11733, 1986

185.-AL-AHDAL MN, ABIDI TF, FLANAGAN TD.: The interaction of sendai virus glycoprotein bearing recombinant vesicles with cell surfaces. Biochim. Biophys. Acta. 854,2: 157-168, 1986

186.-BUFFINGTON CK, EL-SHIEKH T, KITABICHI AE, MATTERI R.: Phytohemagglutinin (PHA) activated human T limphocytes: concomitant appareance of insulin binding, degradation and insulin mediated activation of piruvate dehydrogenase (PDH). Biochem. Biophys. Res. Commun. 134,1: 412-419, 1986

187.-WASSEF NM, ALVING CR.: Phosphatidyl inositol liposomes opsonized by concanavalin A stimulate phosphatidyl inositol turnover in macrophages. Biochem. Biophys. Res. Comm. 138,3: 1090-1098, 1986

188.-WHITNEY PL, POWELL JT, SANFORD GL.: Oxidation and chemical modification of lung beta-galactosidase specific lectin J. Biochem. 283,3: 683-689, 1986

189.-ROBERTS GP, BRUNT J.: Differentiation-related changes in glycoprotein synthesis by human keratinocytes. 237,2: 519-525, 1986

190.-KING IA, TABIOWO A, POPE FM.: A lectin-binding glycoprotein of Mr 135000 associated with basal keratinocytes in pig epidermis. J. Biochem. 237,2: 405-414, 1986

191.-KARSENTI E, BORNENS M, AVRAMEAS S.: Stimulation and inhibition of DNA synthesis in rat thymocytes: action of concanavalin A and wheat germ agglutinin. Eur. J. Immunol. 5: 73-76, 1975

192.-YAMASHITA K, HITOI A, IRIE M, KOBATA A.: Fractionation by lectin affinity chromatography indicates that the glycosylation of most ribonucleases in human viscera and body fluids is organic specific. Arch. Biochem. Biophys. 250,1: 263-266, -- 1986

193.-NAKATA S, KIMURA T.: Behavior of ingested concanavalin A in the gastrointestinal tract of the rat. Agric. Biol. Chem. 50,3: 645-649, 1986

194.-NACHBAR MS, OPPENHEIM JD, THOMAS JO.: Lectins in the U.S.diet. Isolation and -- characterization of a lectins from the tomato (lycopersicon esculentum) J. Biol. Chem. 255,5: 2056-2061, 1980

195.-LEHRMAN MA, IMBER MJ, HILL RJ.: The binding of fucose containing glycoproteins - by hepatic lectins. Re-examination of the clearance from blood and the binding - to membrane receptors and pure lectins. J. Biol. Chem. 261,16: 7412-7418, 1986 -

196.-LEHRMAN MA, HILL RL.: The binding of fucose containing glycoproteins by hepatic-lectins. Purification of a fucose-binding lectin from rat liver. J. Biol. Chem.- 261,16: 7419-7425, 1986

197.-HALTINWANGER RS, LEHRMAN MA, ECKHARDT AE, HILL RL.: The distribution and localization of the fucose-binding lectin in rat tissues and the identification of a - high affinity from of the manosa/N-acetylglucosamine-binding lectin in rat liver J. Biol. Chem. 261,16: 7433-7439,1986

198.-HALTINWANGER RS, HILL RL.: The isolation of a rat alveolar macrophage lectin. - J. Biol. Chem. 261,16: 7440-7444, 1986

199.-NEUCERE JN.: Lectins in grain sorghum (Sorghum bicolor c. Moench). J. Agric. - Food Chem. 30: 603-604, 1982

200.-SCHECHTER B, LIS H, LOTAN R, NOVOGRODSKY A, SHARON N.: The requirement for tetravalency of soybean agglutinin for induction of mitogenic stimulation of lymphocytes. Eur. J. Immunol. 6: 145-149, 1976

201.-PRUJANSKY A, RAVID A, SHARON N.: Cooperativity of lectin binding to lymphocytes, and its relevance to mitogenic stimulation. Biochim. Biophys. Acta. 508: 137- -- 146, 1978

202.-SOPHIANOPOULOS AJ, SOPHIANOPOULOS JA.: Effect of the concanavalin A on its affinity for manganous ion. Arch. Biochem. Biophys. 246,2: 572-580, 1986

203.-NISHIHARA T, WYRICK RE, WORKING PK, CHEN YH, HEDRICK JL.: Isolation and characterization of a lectin from the cortical granules of Xenopus laevis eggs. Biochem. 25,20: 6013-6020, 1986

204.-MOULTON MP, SABBADINI RA, NORTON KC, DAHMS SA.: Studies on the transverse tubule membrane Mg ATPase. Lectin-induced alterations of kinetic behavior. J. Biol. -- Chem. 261,26: 12244-12251, 1986.

205.-CARDY BJ, BEVERSDORF WD.: A procedure for the starch gel electrophoretic detec-- tion of isozymes of soybean. University of Guelph, Ontario, Canada. Tech. Bull. 119,8401: 1-9, 1984

206.-CARDY BJ, STUBER CW. WENDEL JI, GOODMAN MM.: Techniques for starch gel electro-- phoresis of enzymes from maize (Zea mays L.). North Carolina State University. The Inst. of Stat. 1317:1-27, 1983

207.-JONES BL, LOOKHART GL, FINNEY KF.: Identification of wheat cultivars by gliadin electrophoresis: electrophoregrams of the 88 wheat cultivars most commonly grown in the United States in 1979. Cereal Chem. 59,3: 181-188, 1982

208.-PRODUCTORA NACIONAL DE SEMILLAS, S.A.R.H.: Concentrado del inventario nacional - con cifras al 31 de Enero de 1985