

74
29

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

-FACULTAD DE CIENCIAS-

TITULO: Efectos alelopáticos de Eichhornia crassipes
sobre el crecimiento radicular de Echinochloa
crusgalli y Amaranthus sp.

TESIS

Que para obtener el titulo de

B I O L O G O .

PRESENTA

Mauro P. Gómez Juárez

Instituto de Fisiología Celular
Lab. de Ecología Química

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

México, 1990.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

INDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
-Metabolismo Primario y Secundario.....	2
-Alelopatía.....	5
ANTECEDENTES.....	7
-Manejo Agrícola y Alelopatía.....	7
-El Lirio Acuático.....	9
-Composición Química del Lirio Acuático.....	10
OBJETIVOS.....	12
MATERIALES Y METODOS.....	13
-Zona de Trabajo.....	13
-Elección de la Semilla de Prueba.....	14
-Preparación de los Lixiviados.....	16
-Bioensayos.....	16
-Extractos Orgánicos.....	17
-Bioensayos con Extractos Orgánicos.....	18
-Análisis Histológico.....	19
RESULTADOS Y DISCUSION.....	20
COMENTARIOS FINALES.....	43
BIBLIOGRAFIA.....	44

RESUMEN

Se realizaron una serie de bioensayos para comprobar el potencial alelopático del lirio acuático. La planta se separó en tres partes raíz, parte aérea y flor, se lixivió con agua destilada. Los lixiviados se hicieron con el material fresco y seco. El que causó mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento radicular de las especies de prueba, fué el lixiviado de la parte aérea seca del lirio acuático. Posteriormente se hicieron extractos de la parte aérea seca con solventes orgánicos y se realizaron con ellos los bioensayos correspondientes.

El efecto inhibitorio se observó especialmente con el extracto de acetato de etilo. Las radículas de las plantulas tratadas con este extracto se cortaron longitudinalmente, incluidas previamente en la resina sintética JB-4, en un ultramicrotomo a un grosor de 1 a 2 micras, con el fin de observar los efectos estructurales causados por los metabolitos activos que el extracto de acetato de etilo contenía. Entre estos efectos el más importante consistió en una marcada plasmólisis de las células de la cofia.

INTRODUCCION

-Metabolismo Primario y Secundario.

En los organismos vivos los compuestos químicos son sintetizados y degradados mediante vías diversas que involucran numerosos pasos intermedios. A este proceso se le conoce con el nombre de metabolismo primario y a los productos químicos que resultan de este proceso se les denomina metabolitos primarios. Estos son compuestos cuya presencia en la materia viva, independientemente de su origen filogenético, es común y cuya estructura en los diversos phyla, es similar: aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos nucleicos, ácidos carboxílicos, etc. (Conn, 1981)

Paralelamente a éstos, y a través de las mismas o similares vías, se originan otro tipo de compuestos que por sus características particulares y específicas se denominan, compuestos o metabolitos secundarios.

Estos se caracterizan especialmente por:

1. La gran heterogeneidad de su estructura química.
2. Su distribución restringida.
3. Se forman gracias a la acción de enzimas codificadas por material genético especial.
4. Existe un control estricto de su biosíntesis, por medio de la regulación de la cantidad de enzimas involucradas y de la actividad de éstas.
5. Existe una compartimentalización de enzimas, precursores, intermediarios y productos involucrados en su biosíntesis, almacenamiento y desintegración.

6. Tienen una importancia relativa para la célula sintetizadora como tal, pero tienen una mayor importancia para el organismo como un todo.

7. Existe una falta de continuidad filogenética en muchos de ellos.

La expresión del metabolismo secundario, se entiende como un aspecto de especificación celular o bien de nueva formación de células especializadas por integración, en los programas de diferenciación y desarrollo del organismo productor. (Luckner, 1984)

Los aspectos bien conocidos de los metabolitos secundarios son su bioquímica y su química.

Los menos conocidos:

- a. cuales son y como actúan los aspectos y factores más destacados que influyen sobre el metabolismo secundario.
- b. cuáles son los mecanismos moleculares que integran la biosíntesis de un producto secundario en los programas de diferenciación y desarrollo de un organismo.

Actualmente se conocen cientos de miles de compuestos secundarios, pero tal vez existan millones, y lo más importante de recalcar, es que se siguen biosintetizando más, gracias a las interacciones bióticas dentro y entre especies y a la continua evolución de los organismos.

Puede decirse que los compuestos secundarios no son cruciales para el mantenimiento de la vida en general, su importancia metabólica puede ser grande, sin embargo prácticamente se desconoce. En cambio su importancia ecológica, en muchos casos se conoce mucho más y se ha estudiado extensamente.

Su estructura química es muy diversa, se han encontrado: aldehídos, ácidos orgánicos, pigmentos, alcaloides, etc.; con frecuencia no existe entre ellos una semejanza estructural, ya que son producidos en organismos distintos y en órganos diferentes, además actúan de forma diversa sobre múltiples organismos y en diferentes medios ambientes. Sin embargo coinciden en sus funciones ecológicas.

La presencia y trascendencia ecológica de los compuestos secundarios en las plantas, ha llamado la atención particularmente, ya que el reino vegetal (sin olvidar a otros organismos como las bacterias por ejemplo) constituye el punto de partida de la síntesis de estos compuestos y también de las interacciones bióticas, por constituir el nivel fundamental en las cadenas tróficas, el de los productores.

Muchos compuestos secundarios pueden ser tóxicos para la planta que los produce, por lo que ésta debe neutralizarlos o eliminarlos, este procedimiento se puede llevar a cabo de diversas formas:

- a) Los inactiva combinándolos y tornándolos inocuos.
- b) Los almacena lejos de las zonas donde se efectúan reacciones de importancia metabólica, por ejemplo, los glucósidos tóxicos se encuentran en solución dentro de las vacuolas de la célula, separados del resto del protoplásmo.
- c) Se presentan como polímeros (taninos, ligninas, resinas y hule), o como cristales (rafidios de oxalato de calcio o cristales de carbonato de calcio).
- d) Son depositados fuera de las células vivas, en las células muertas, en el duramen de la madera, en espacios intercelula-

res, en conductos especiales, en tricomas de la superficie de muchas plantas, etc.

e) Son descargados al exterior por diversos caminos; lixiviación de la superficie foliar, gutación, exudación de las raíces, volatilización o descomposición. En este punto radica gran parte de su importancia ecológica.

-Alelopatía

La gran producción de todo tipo de sustancias y su liberación al medio, conforman verdaderas "lluvias químicas" cuyos efectos ecológicos son difíciles de determinar.

Esta liberación de compuestos puede determinar alguna relaciones entre organismos y por lo tanto, los metabolitos secundarios se han clasificado de la siguiente manera:

1. Aquellos compuestos secundarios, que median interacciones entre los organismos de la misma especie se llaman:

- a. Autotoxinas, cuando son perjudiciales para la especie.
- b. Autoinhibidores adaptativos, cuando controlan la cantidad de individuos de la población.
- c. Feromonas, cuando permiten la comunicación química entre los organismos de la especie.

2. Aquellos compuestos que determinan las relaciones con organismos de diferentes especies se llaman aleloquímicos, y pueden ser de tres tipos:

- a. Alomonas, cuando le dan alguna ventaja al organismo que los produce.
- b. Kairomonas, cuando se la confieren al organismo que los recibe.

c. Depresores, cuando no le dan ninguna ventaja a los organismos que los producen, pero si perjudican a los organismos que los reciben. (Whittaker y Feeny, 1971)

Entre las alomonas, encontramos algunos compuestos que determinan relaciones alelopáticas, las cuales, según Rice (1984), pueden definirse como cualquier efecto químico directo o indirecto de una planta sobre otra, incluyendo a los microorganismos y ciertos animales.

En las relaciones alelopáticas entre una planta y otra, una planta y un microorganismo, o una planta y un herbívoro, interviene una amplia gama de mecanismos de acción de los metabolitos responsables de la interacción. De acuerdo con Einhellig (1986), los podemos dividir en tres niveles:

- a) En el primero, podemos incluir efectos que se manifiestan por la interacción de los alelopáticos con algunas hormonas, perturbaciones en la membrana y alteraciones de enzimas específicas, del organismo receptor.
- b) En el segundo, la acción puede registrarse a nivel de la absorción de agua o iones, inhibición de la respiración y de las reservas de ATP. Puede también alterar la síntesis de proteínas, de pigmentos, de reservas de carbono, inhibir la fotosíntesis y alterar la función estomática.
- c) En el tercer nivel se registra una alteración en la división o elongación celular y como consecuencia, una inhibición en el desarrollo y crecimiento de las plantas.

Por lo anterior, podemos darnos cuenta que la alelopatía, es un proceso cuyo estudio puede abordarse a diferentes niveles: ecológico, fisiológico, químico y bioquímico, dependiendo del

aspecto que más nos interese dilucidar.

ANTECEDENTES

-Manejo Agrícola y Alelopatía

En el mundo entero, y en especial en nuestro país, uno de los grandes problemas que se afrontan en los umbrales del siglo XXI, es el inadecuado manejo de muchos agrosistemas, lo que se traduce en una deficiente producción agrícola, como por ejemplo, no rotar los cultivos, utilizar monocultivos en lugar de policultivos, abusar de los herbicidas, insecticidas y fertilizantes químicos, etc. Todo ello contribuye a que la tierra pierda su fertilidad y se contamine.

Otro de los graves problemas causado por el uso intensivo de los agroquímicos, es la contaminación de los cuerpos de agua, por el lavado natural de la tierra por la lluvia, lo que provoca el transporte y dispersión de todos los productos tóxicos utilizados como herbicidas, insecticidas y fertilizantes químicos. Estos problemas, han originado un extenso movimiento de revisión de las prácticas de manejo agrícola y de manejo de recursos en general, con miras al siglo XXI, con el fin de encontrar formas más razonables de producción de alimentos y otros satisfactores, desde el punto de vista de la calidad del ambiente, la conservación de recursos y la permanencia y continuidad del proceso productivo.

En este campo del manejo agrícola, las interacciones alelopáticas han cobrado un especial interés en los últimos años debido a las consecuencias ecológicas y productivas de las

interacciones químicas cultivo-cultivo, cultivo malezas, cultivo-microorganismos, etc. En estas interacciones se ha comprobado la importancia de la alelopatía como uno más de los procesos ecológicos que conforman la dinámica de los agroecosistemas.

El estudio de la alelopatía en los agroecosistemas, puede contribuir al mejoramiento de la producción agrícola en cultivos mixtos o combinados, rotación de cultivos y uso de diversos abonos verdes y orgánicos (Anaya, et al., 1987; Anaya, et al., 1987), técnicas que caracterizan a muchos de los agroecosistemas tradicionales. Paralelamente, estos agroecosistemas constituyen reservas valiosas de germoplasma y por lo tanto permiten la conservación de recursos bióticos insustituibles por su valor biológico y económico intrínseco.

Se ha sugerido que el modo de acción de muchos alelopáticos, tiene un claro paralelismo con el de los herbicidas. En este sentido, el potencial alelopático de algunas plantas, cultivadas o silvestres comunes en los agroecosistemas, tiene especial interés por las posibilidades de aplicarlo al control de malezas.

Existen una serie de trabajos en los cuales se menciona la utilización de plantas como control biológico. (Anaya et al, 1987; Orville G. B., 1987). Un ejemplo de este control biológico se observa, en la agricultura tradicional donde se llevan a cabo empíricamente prácticas que aprovechan el contenido químico de una planta para eliminar otras especies indeseables, esto constituye un campo fértil de investigación para la alelopatía en particular y la ecología química en general.

Tal es el caso de los trabajos realizados por Roy-Ocotla y Ortiz (1978) y Anaya y colaboradores (1987), los que mencionan

la utilización del lirio acuático (Eichhornia crassipes) en las chinampas de la zona de Xochimilco donde los agricultores lo ocupaban como abono verde y compost, y con ello, además de que fertilizaban el suelo, lograban una disminución en la cantidad de malezas que crecían en los campos de cultivo. En estos trabajos se observó un efecto inhibitor del crecimiento de malezas, producido por diversos efectos de la planta y por el uso de la misma como abono verde.

-El Lirio Acuático.

Eichhornia crassipes fue introducido en los lagos del Valle de México en 1897 proveniente del Brasil (West y Armillas, 1950). La distribución del lirio se restringía a Sudamérica tropical y tal vez a América Central y a las islas del Caribe (Sculthorpe, 1967), pero debido a la acción del hombre, en la actualidad se encuentra en las regiones cálidas de todo el mundo.

El lirio acuático, es una monocotiledónea de la familia Pontederiaceae, que vive en general flotando libremente en diversos cuerpos de agua, aunque puede estar sujeto a los suelos pantanosos de las orillas de lagos o lagunas.

La planta está constituida de un corto rizoma (tallo vegetativo), raíces, hojas rosetadas, una inflorescencia y estolones de conexión entre dos o más plantas (Penfound y Earle, 1948; Weber, 1987; Solms-Lauback y Graf Zu, 1898). La hoja consiste de varias capas de parénquima en empalizada bajo la epidermis de ambas superficies. Entre las zonas de parénquima en empalizada, hay una capa de parénquima esponjoso con grandes cámaras de aire, que le confieren a esta especie su capacidad de

flotar.

-Composición Química del Lirio Acuático.

El lirio acuático es relativamente rico en potasio, fósforo y cloruros (Boyd, 1969). Su contenido de agua es extraordinariamente alto, de 93 a 96 % (Penfound y Earle, 1948; Little y Henson, 1967). Las concentraciones de fósforo y nitrógeno están relacionadas al contenido de estos elementos en el medio (Gosselt y Norris, 1971; Boyd y Scarsbrook, 1975; Dunningan et al, 1975).

Se ha reportado que el lirio acuático solo muestra niveles deficientes de dos aminoácidos esenciales: valina y metionina (Taylor y Robbins, 1968). El contenido de proteína cruda ha sido encontrado dentro de un rango de 4.7 a 9.2 % (Taylor y Robbins, 1968); 5.6 a 12.1 % (Osman et al, 1975); y 12 a 18 % (Boyd, 1970; 1968), de peso seco.

Por otra parte algunos investigadores han encontrado diversos metabolitos secundarios en las partes constituyentes de la planta, los cuales pueden tener efectos biológicos importantes. En la raíz del lirio se ha reportado la presencia de una auxina (Mukherjec et al, 1964), con actividad estimulante sobre el crecimiento de otras plantas, como lo demuestra el trabajo reportado por Sumara y Sircar (1964).

Stuart y Coke (1975) reportaron la presencia en la hoja del lirio acuático, de un derivado del ácido abscísico, al cual se le llamó vomifoliol. El ácido abscísico es una sustancia, que en las hojas de los árboles deciduos inhibe el crecimiento e induce la latencia (Wareing, 1969; Wareing, 1969; Wareing y

Ryback, 1970).

En la flor del lirio acuático se ha reportado la presencia de otro derivado del ácido abscísico de estructura carotenoide, la violaxantina (Taylor y Burden, 1970). Además Mannen y colaboradores (1965), han reportado el aislamiento de una antocianina de la flor del lirio acuático a la que llamaron eichhornina.

OBJETIVOS

En vista de lo anterior y debido a la presencia de compuestos secundarios con potencial alelopático en el lirio acuático se plantean los siguientes objetivos:

- a) Comprobar los efectos alelopáticos de Eichhornia crassipes sobre la germinación y el crecimiento radicular de dos malezas Echinochloa crusgalli y Amaranthus sp.

- b) Realizar las primeras etapas de la separación de los compuestos activos de la planta, por medio de una extracción orgánica con solventes de diversa polaridad, hexano, acetato de etilo y metanol.

- c) Realizar observaciones preliminares sobre el efecto de los compuestos fitotóxicos del lirio en la estructura de las células y tejidos de la radícula de estas malezas utilizadas como especies de prueba.

MATERIALES Y METODOS

-Zona de Trabajo

El trabajo de campo y la recolección de material se llevó a cabo en San Miguel Regla, Estado de Hidalgo, México, en un pequeño cuerpo de agua ubicado a espaldas de la exhacienda de Sta. Ma. Regla. Este lugar se eligió por dos razones 1) estaba invadido por lirio acuático y 2) el agua que contenía era de buena calidad y no estaba contaminada.

En el lugar se midieron el pH y la temperatura del agua y se tomaron muestras a una profundidad aproximada de 35 cm, posteriormente se filtraron con papel filtro Whatman 4, y se les agregó 1 ml/l de H_2SO_4 para su preservación, se cubrieron con papel aluminio y se refrigeraron a 5°C. Veinticuatro horas después se mandaron al Instituto de Biología para el análisis del contenido de algunos iones como: calcio (Ca), magnesio (Mg), potasio (K), sodio (Na), fósforo (P) y nitrógeno (N).

También se realizó una serie de colectas de lirio acuático a lo largo de toda la investigación, la mayoría del cual se encontraba flotando en las orillas del cuerpo de agua. En cada colecta se recogieron aproximadamente 50 Kg de material fresco, el cual se trasladó al laboratorio y se procedió a separarlo en: flor, raíz y lo que se consideró como parte aérea que comprendía hojas y bulbos.

- Elección de la Semilla de Prueba.

Para elegir las semillas de prueba, se realizó en primer lugar un bioensayo de germinación utilizando diversas semillas de malezas y plantas cultivadas, tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas, con el fin de trabajar con aquellas que tuvieran una viabilidad alta y un tiempo lo más corto posible de germinación. Estos requisitos son importantes cuando se aplican lixiviados o extractos de una planta, que pueden descomponerse o promover el crecimiento de microorganismos si los bioensayos se prolongan por mucho tiempo. De acuerdo a los resultados de estas pruebas (Tabla 1), y debido a que el potencial fitotóxico del lirio fué considerado como equivalente a un efecto herbicida se eligieron una monocotiledónea, Echinochloa crusgalli, que germina generalmente a las 20 o 24 hrs. y una dicotiledónea, Amaranthus sp que germina a las 13 o 16 hrs. Los herbicidas comerciales, en general tienen un efecto selectivo sobre uno u otro grupo de plantas y por ello se pensó que el efecto del lirio podría manifestarse de la misma manera.

ESPECIE	% DE GERMINACION
<u>Brassica campestris</u>	73.3
<u>Cyperus esculentus</u>	80.0
<u>Amaranthus sp.</u>	90.0 *
<u>Sorghum jalapensis</u>	36.6
<u>Cynodon dactylon</u>	60.0
<u>Polygonum sp.</u>	0.0
<u>Setaria faverii</u>	0.0
<u>Ambrosia artemisiifolia</u>	0.0
<u>Medicago sativa</u>	93.0
<u>Atriplex sp.</u>	0.0
<u>Ipomoea purpurea</u>	50.0
<u>Portulaca oleraceae</u>	100.0

(continúa tabla 1)

<u>Digitaria sanguinalis</u>	30.0
<u>Taraxacum vulgare</u>	20.0
<u>Sida spinosa</u>	40.0
<u>Stizolobium pruriens</u>	30.0
<u>Echinochloa crusgalli</u>	90.0 *
<u>Portulaca oleraceae</u>	100.0
<u>Lolium multiflorum</u>	80.0
<u>Avena sativa</u>	50.0
<u>Bromus erectus</u>	20.0
<u>Agropyron repens</u>	15.0
<u>Ipomoea sp</u>	100.0
<u>Cucumber pepo</u>	80.6
<u>Hordeum vulgare</u>	20.0

Tabla 1. Resultados de las pruebas de germinación para elegir las especies de prueba

©* SEMILLAS ELEGIDAS

Una vez elegidas estas semillas de prueba se procedió a realizar una curva de tolerancia tanto al pH como a la presión osmótica. Ya que de acuerdo con estudios anteriores se ha observado, que la presión osmótica y el pH son factores importantes que intervienen en la germinación y el crecimiento de las plantas; en un estudio de alelopatía es necesario mantener a estos dos factores dentro de los límites de tolerancia de las especies de prueba, para evitar que sean ellos y no los compuestos secundarios de la planta, los que afecten la germinación y el crecimiento. Para realizar estas curvas se utilizó cloruro de sodio para el pH y manitol para la presión osmótica, utilizándose un osmómetro de congelación, para medir la osmolaridad de los tratamientos.

-Preparación de los Lixiviados.

Separadas las diversas partes de la planta como se mencionó anteriormente se procedió a lixiviarlas en estado fresco con agua destilada a una proporción de 15 g. en 100 ml durante tres hrs.

Los lixiviados obtenidos se filtraron con papel filtro Whatman 4, y se les midió el pH y la presión osmótica para asegurarnos que no rebasaban los límites de tolerancia de las especies de prueba .

-Bioensayos.

Bajo un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones se realizaron bioensayos en cajas de Petri, cada una de las cuales se preparó de la siguiente manera: se colocaron 3 ml del lixiviado correspondiente (flor, raíz o parte aérea) o de agua destilada como testigo y tres ml de agar-agar al 1.5%, una vez solidificada esta mezcla se sembraron 10 semillas por caja. Las cajas se colocaron en una cámara de germinación a una temperatura aproximada de 30 oC y en total obscuridad, durante 24 y 48 hrs. según la especie. Al término del experimento se procedió a medir el porcentaje de semillas germinadas y la longitud radicular.

Los resultados obtenidos se tabularon, se analizaron estadísticamente mediante un ANOVA y se graficaron.

Con la planta seca se realizó el mismo procedimiento anterior con el fin de observar si los efectos producidos con el material fresco seguían manteniéndose cuando la planta se secaba. El material se deshidrató en una secadora de plantas y

posteriormente se le realizó un lixiviado en una proporción de 1 g. en 100 ml. de agua destilada durante tres horas. Este lixiviado se filtró con papel Whatman 4 y se le midió el pH y la presión osmótica. En el caso de la parte aérea se diluyó el lixiviado debido a que su presión osmótica era muy elevada (86 mOsm) y según la gráfica de tolerancia a la presión osmótica (Gráfica 2) de las dos especies de prueba ya se encontraba fuera de los límites.

Las condiciones de estos bioensayos fueron iguales que las de los anteriores, se midieron los mismos parámetros y se procesaron de la misma forma.

Se realizó también un bioensayo con el lixiviado de la parte aérea, a distintas concentraciones, de tal forma que se obtuvieran diferentes presiones osmóticas y así observar si el efecto de inhibición se debía a la alta presión osmótica que este lixiviado presentó o al efecto de algún compuesto fitotóxico.

Al observar los resultados hasta aquí obtenidos, se continuó utilizando únicamente la parte aérea de la planta, esto es bulbos y hojas, ya que con ella se obtuvo el mayor efecto inhibitorio del crecimiento radicular de las semillas.

-Extractos Orgánicos.

El siguiente paso fué la realización de extractos con solventes orgánicos, utilizando hexano, acetato de etilo y metanol. Se eligieron estos tres solventes de tal modo que se pudiera abarcar un rango de polaridad lo mas amplio posible, de menor a mayor.

Se pesaron 300 g de la parte aérea seca, se molieron en un

molino y se pusieron a macerar con 15 litros de hexano durante tres días a temperatura ambiente. Después de este tiempo se extrajo el hexano y al mismo material se le agregó 15 l de acetato de etilo y se dejó reposar durante otros tres días, al término de éstos se extrajo el acetato de etilo y se agregó metanol (15 l) repitiéndose el mismo procedimiento.

Los extractos se filtraron con papel filtro Whatman 4 y se concentraron eliminándose totalmente el solvente con ayuda de un rotavapor.

Una vez obtenidos los extractos se procedió a realizar una segunda serie de bioensayos, para detectar en cual de ellos se encontraba el mayor efecto fitotóxico.

-Bioensayos con Extractos Orgánicos.

Los bioensayos se realizaron de la siguiente manera:

Se disolvieron los extractos con los mismos solventes con los que se extrajeron de tal manera a tener de cada uno de ellos una solución en proporción de 200 ppm. Esta, se diluyo para obtener soluciones de 150, 100, 50 y 25 ppm. Con cada uno de estos tratamientos se impregnaba el papel filtro Whatman 4 de 5.5 cm de diámetro, se evaporó el solvente en una campana de extracción, se colocó el papel en una caja de Petri (60 X 15) y después se le agregó agua destilada al papel, se sembraron las semillas y las cajas se sellaron con parafilm con el fin de que no se evaporara el agua. Se preparó un testigo con agua destilada y otro cuyo papel filtro se impregnó previamente con el solvente correspondiente, el cual se dejó evaporar.

Las condiciones del experimento fueron iguales a las

anteriores. Los parámetros medidos y los procedimientos estadísticos también.

-Análisis Histológico.

Una vez que se observó que existía un efecto inhibitorio de los extractos orgánicos sobre el crecimiento radicular, el siguiente paso fué observar de que manera se afectaba la estructura de las radículas inhibidas. Para ello se realizaron cortes longitudinales de las mismas, con la siguiente técnica: Las radículas se fijaron en F.A.A. (alcohol etílico al 95%, ác. acético glacial y formaldehído del 37 al 40 %) durante 48 hrs, posteriormente se deshidrataron pasando el material por alcohol etílico a concentraciones de 50, 70, 80, 90 % durante 2 hrs. Posteriormente se pasaron dos veces por alcohol al 100 %, durante dos horas.

Una vez deshidratados se impregnaron con los componentes A y B de la resina sintética (JB-4) durante 24 hrs. Se les agregó un catalizador y se incluyeron en moldes de plástico, dejándose a temperatura ambiente durante 24 hrs. Una vez obtenidos los moldes con las radículas incluidas, se cortaron longitudinalmente entre 1 y 1.5 μ de grosor con ayuda de un ultramicrotomoy con navajas de vidrio.

Los cortes obtenidos se tiñeron con azul de toluidina y se montaron para su análisis al microscopio.

RESULTADOS Y DISCUSION

Una de las características ecológicas más importantes del lirio acuático, se refiere a su alta capacidad de absorción de ciertos compuestos presentes en el agua, tales como los metales pesados, desechos de los ingenios azucareros, además de compuestos inorgánicos provenientes de los insecticidas, herbicidas y fertilizantes químicos utilizados en los campos agrícolas (Sinha y Sinha, 1969) y que son arrastrados a los cuerpos de agua.

En el presente estudio la buena calidad del agua del reservorio donde iba a colectarse el lirio acuático era requisito indispensable para el posterior estudio de la planta, pues era la única forma de estar seguros de que cualquier efecto fitotóxico de los lixiviados o extractos de la misma, estarían determinados por el contenido "natural" de aleloquímicos en ésta y no por algún contaminante que la planta hubiera absorbido del agua.

En la tabla 2 se muestran los valores de pH y temperatura así como los resultados del análisis químico del agua colectada.

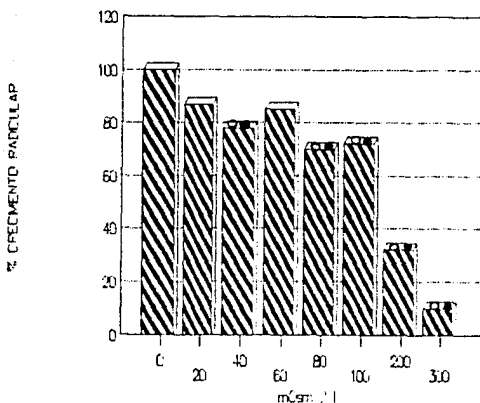
	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3	MUESTRA 4	MUESTRA 5
pH	6.4	6.8	6.8	6.4	6.5
T °C	18	18	18	18	18
Elementos en ppm:					
Ca	.24	.22	.21	.22	.23
Mg	.15	.14	.14	.14	.14
K	3.38	3.22	2.16	3.21	3.25
Na	6.04	5.87	5.66	5.71	5.80
P	.08	.06	.06	.07	.06
N	1.29	1.18	1.08	1.08	1.18

Tabla 2. Resultados del análisis químico del agua de San Miguel Regla, Hgo.

De acuerdo con estos resultados se pudo comprobar que el cuerpo de agua se encontraba libre de contaminantes.

TOLERANCIA A LA PRESION OSMOTICA

Amaranthus sp



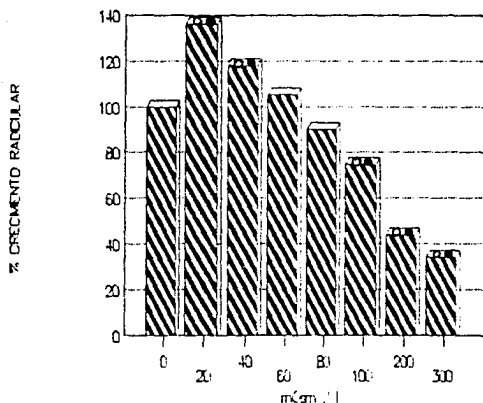
Gráfica 1 Resultados del bioensayo para probar la tolerancia a la presión osmótica de Amaranthus sp.

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

En la gráfica 1 podemos observar los resultados del bioensayo para probar la tolerancia a la presión osmótica de Amaranthus sp. El crecimiento radicular de esta especie se inhibe significativamente a partir de los 80 mosm/l.

TOLERANCIA A LA PRESION OSMOTICA

Echinochloa crusgalli



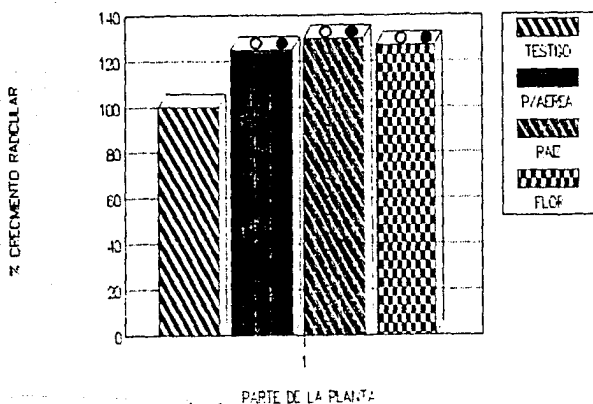
Gráfica 2 Resultados del bioensayo para probar la tolerancia a la presión osmótica de Echinochloa crusgalli.

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

En el caso de Echinochloa crusgalli, (Gráfica 2), las presiones osmóticas bajas (20 y 40 mosm), le producen una estimulación significativa del crecimiento radicular y es hasta los 80 mosm/l cuando se presenta una inhibición significativa del mismo. Estos resultados permitieron aplicar los lixiviados y

extractos del lirio sobre estas semillas de prueba, con la seguridad de que los rangos de las presiones osmóticas que tenían, no perjudicaban a las semillas pues no rebasaban los límites de tolerancia a este factor.

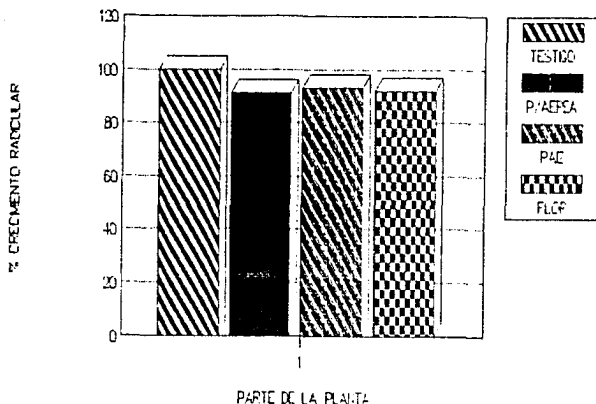
MATERIAL FRESCO (*Eichhornia crassipes*) SOBRE *Amaranthus* sp.



Gráfica 3. Efecto de los lixiviados de las diferentes partes del lirio acuático (frescos) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus* sp.

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

MATERIAL FRESCO (*Eichhornia crassipes*) SOBRE *Echinochloa crusgalli*



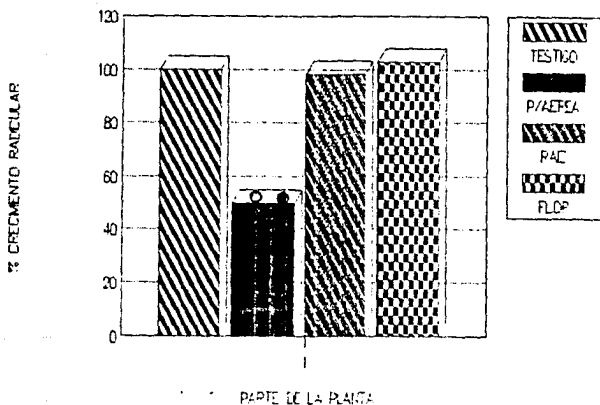
Gráfica 4. Efecto de los lixiviados de las diferentes partes del lirio acuático (frescos), sobre el crecimiento radicular de *Echinochloa crusgalli*.

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

En el caso de los bioensayos con material fresco (gráficas 3 y 4) no se observó inhibición significativa del crecimiento radicular de ninguna de las especies, sin embargo el crecimiento

radicular de Amaranthus sp se estimuló significativamente con los tres tratamientos, siendo la raíz de lirio el tratamiento que causó una mayor estimulación. El crecimiento de Echinochloa no se vió afectado significativamente.

MATERIAL SECO (*Eichhornia crassipes*)
 SOBRE *Amaranthus* sp.

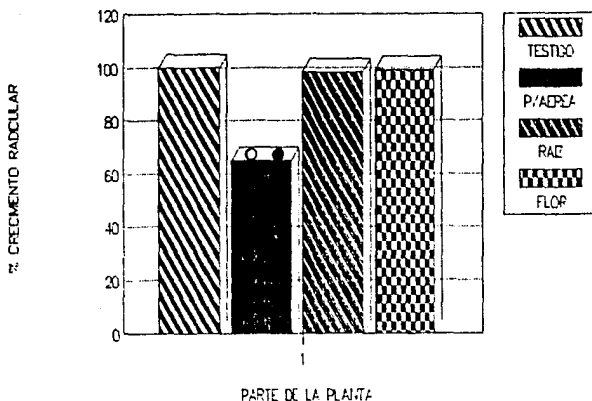


Gráfica 5. Efecto de los lixiviados de las diferentes partes del lirio acuático (secas), sobre el crecimiento radicular de Amaranthus sp.

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

MATERIAL SECO (Eichhornia crassipes)

SOBRE Echinochloa crusgalli



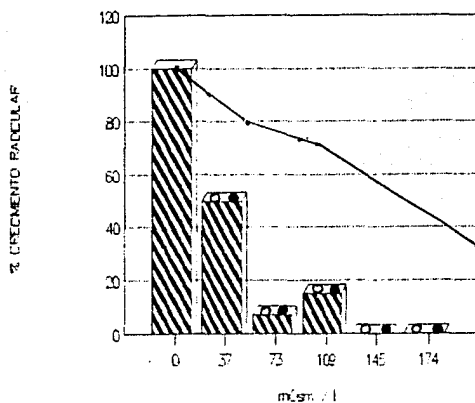
Gráfica 6. Efecto de los lixiviados de las diferentes partes del lirio acuático (secas), sobre el crecimiento radicular de Echinochloa crusgalli.

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

En el caso de las pruebas con material seco, (Gráficas 5 y 6), se observó que el lixiviado de la parte aérea inhibió significativamente el crecimiento radicular de ambas especies, 55 % en Amaranthus y 40 % en Echinochloa. La diferencia entre este resultado y el del material fresco, se debe probablemente a que el compuesto activo causante de esta inhibición se encuentra más concentrado en el material seco que en el fresco. Stuart y Coke (1975), describieron un compuesto derivado del ácido abscísico, llamado vomifoliol en las hojas de lirio acuático, este

compuesto actúa de forma similar al ácido abscísico que se encuentra en las hojas deciduas de algunos árboles. Este hecho no justifica los resultados de los bioensayos de las gráficas 5 y 6, ya que tendría que identificarse al vomifoliol, mediante técnicas fitoquímicas, en las hojas del lirio que se usaron para estos bioensayos, sin embargo indica que en efecto las hojas del lirio contienen ciertos metabolitos secundarios con actividad biológica.

EFFECTO DEL LIXIVIADO DE P. AEREA SOBRE *Amaranthus* sp.

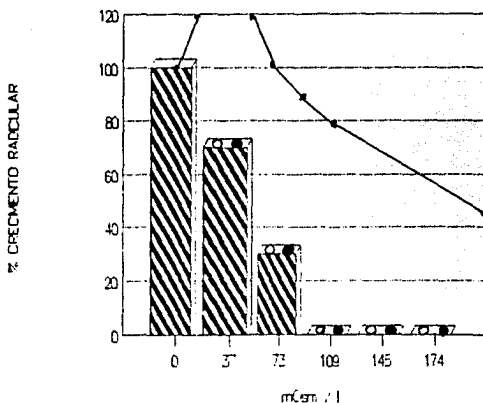


Gráfica 7. Efecto a diferentes concentraciones del lixiviado de la parte aérea del lirio acuático (seca), sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus* sp. (barras); comparado con el efecto de concentraciones de manitol de osmolaridad similar (línea continua).

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

EFFECTO DEL LIXIVIADO DE P. AEREA

SOBRE *Echinochloa crusgalli*



Gráfica 8. Efecto a diferentes concentraciones del lixiviado de la parte aérea del lirio acuático (seca), sobre el crecimiento radicular de *Echinochloa crusgalli* (barras); comparado con el efecto de concentraciones de manitol de osmolaridad similar (línea continua).

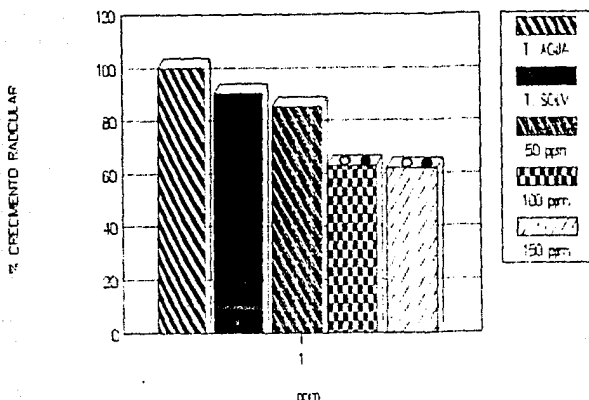
- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

En las gráficas 7 y 8 se muestran los resultados de los bioensayos con el lixiviado de la parte aérea de lirio acuático a diferentes concentraciones, comparados con los resultados del bioensayo realizado con diferentes concentraciones de manitol que presentaban una presión osmótica similar a la de los respectivos lixiviados de la parte aérea seca. En este caso se puede observar que el efecto inhibitorio fue mucho mayor y estadísticamente significativo en las semillas tratadas con el lixiviado acuoso de la parte aérea seca del lirio, y que esta diferencia no se debe a la presión osmótica, sino a los

compuestos con actividad biológica contenidos en el lirio acuático.

En relación a los resultados obtenidos en los bioensayos con los extractos orgánicos de la parte aérea del lirio (hexano, acetato de etilo y metanol) probados sobre Amaranthus y Echinochloa podemos observar que la actividad de los mismos varió, dependiendo de la especie de prueba. El extracto hexánico inhibe significativamente el crecimiento radicular de Amaranthus a 100 y 150 ppm (Gráfica 9). Los resultados con el lixiviado a 200 ppm no se incluyeron por los problemas de desecación que tuvieron las cajas con este tratamiento.

EFFECTO DEL EXTRACTO ORGANICO (HEXANO) SOBRE Amaranthus sp.

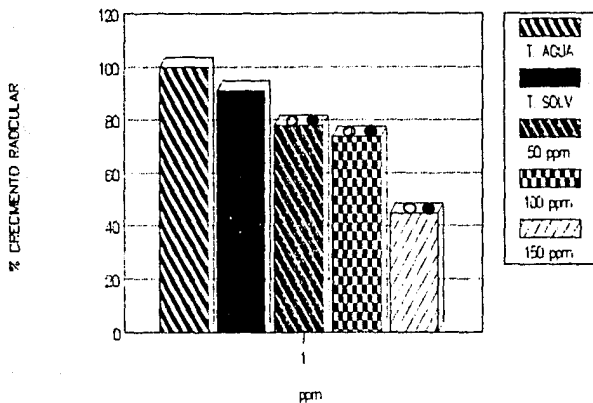


Gráfica 9. Efecto de diferentes concentraciones del extracto orgánico (con hexano), de la parte aérea del lirio acuático (seca) sobre el crecimiento radicular de Amaranthus sp.

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

El extracto de acetato de etilo, causó una inhibición significativa a partir de 50 ppm, llegando a un 100 % de inhibición a 200 ppm (Gráfica 10).

EFECTO DEL EXTRACTO ORGANICO (ACETATO DE ETILO) SOBRE *Amaranthus* sp.

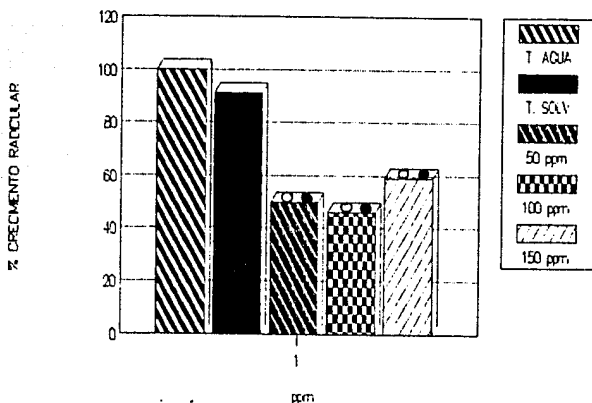


Gráfica 10. Efecto de diferentes concentraciones del extracto orgánico (con acetato de etilo), de la parte aérea del lirio acuático (seca) sobre el crecimiento radicular de *Amaranthus* sp.

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

Y finalmente el extracto metanólico, (Gráfica 11) inhibe significativamente a esta especie desde las 50 ppm. Este extracto y el de acetato de etilo, son los que más afectan a Amaranthus.

EFFECTO DEL EXTRACTO ORGANICO (METANOL) SOBRE Amaranthus sp.



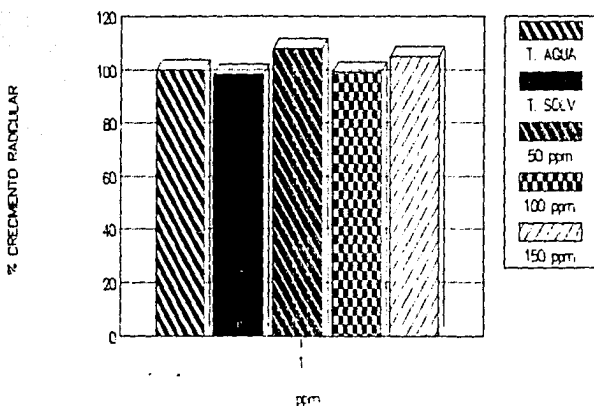
Gráfica 11. Efecto de diferentes concentraciones del extracto orgánico (con metanol), de la parte aérea del lirio acuático (seca) sobre el crecimiento radicular de Amaranthus sp.

- Significativo duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

En el caso de Echinochloa, podemos observar que en general los extractos orgánicos de la parte aérea del lirio, afectaron en menor grado, el crecimiento radicular de esta especie, comparado con Amarantus.

El extracto hexanico, aun a 200 ppm no causó ningún efecto sobre su crecimiento (Gráfica 12).

EFECTO DEL EXTRACTO ORGANICO (HEXANO) SOBRE E. crusgalli

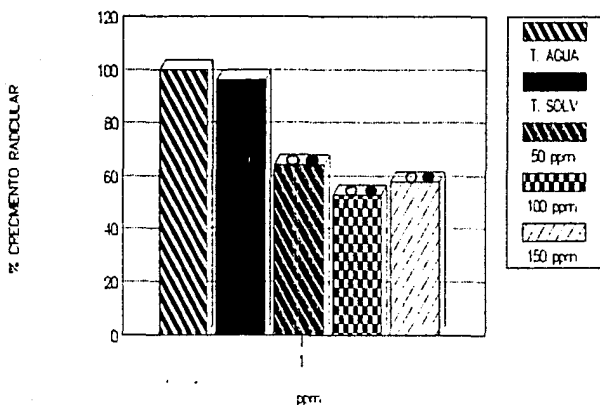


Gráfica 12. Efecto de diferentes concentraciones del extracto orgánico (con exano), de la parte aérea del lirio acuático (seca) sobre el crecimiento radicular de Echinochloa crusgalli.

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

El extracto de acetato de etilo, fué el que más afectó a Echinochloa (Gráfica 13); desde los 50 ppm, su radícula fué inhibida significativamente, aunque no se llegó a obtener un 100 % de inhibición, como en el caso de Amaranthus.

EFECTO DEL EXTRACTO ORGANICO (ACETATO DE ETILO) SOBRE E. crusgalli

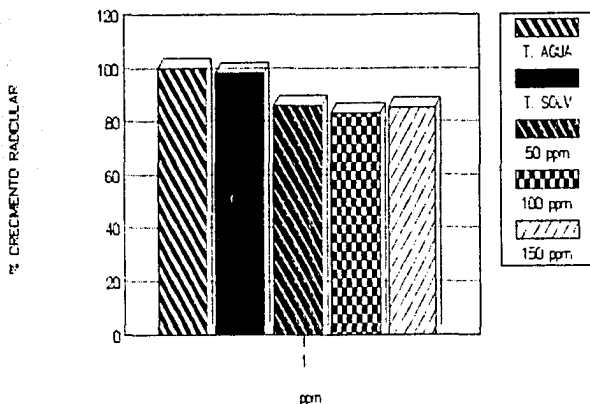


Gráfica 13. Efecto de diferentes concentraciones del extracto orgánico (con acetato de etilo), de la parte aérea del lirio acuático (seca) sobre el crecimiento radicular de Echinochloa crusgalli.

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

Finalmente el extracto metanólico sólo inhibió significativamente a Echinochloa a 200 ppm (Gráfica 14).

EFECTO DEL EXTRACTO ORGANICO (METANOL) SOBRE E. crusgalli



Gráfica 14. Efecto de diferentes concentraciones del extracto orgánico (con metanol), de la parte aérea del lirio acuático (seca) sobre el crecimiento radicular de Echinochloa crusgalli.

- Significativo Duncans ($\alpha = 0.05$)
- Significativo Newman-Keuls ($\alpha = 0.05$)

La diferencia de respuestas de ambas especies a los anteriores tratamientos, puede deberse a diversas razones, entre ellas, la susceptibilidad particular de las semillas al contenido

químico de cada uno de los tratamientos y a la diferencia de éste contenido químico en cada uno de los extractos, que estuvo determinada por la diversa polaridad de los solventes con los que éstos se hicieron, la cual fué la responsable de que extrajeran diversos compuestos cada uno. Este es el principio que permite la separación de compuestos en una extracción orgánica, usando solventes de menor (hexano), mediana (acetato de etilo) a mayor polaridad (metanol).

Tomando en cuenta que los extractos orgánicos tenían una baja solubilidad en agua y que la presión osmótica de las soluciones acuosas reconstituídas de los mismos, fué siempre 0, podemos afirmar que los compuestos del lirio acuático, Eicchornia crassipes, involucrados en este experimento, tienen una gran actividad biológica.

Con referencia a los efectos del extracto de acetato de etilo de la parte aérea del lirio sobre la estructura de la radícula de las especies de prueba, los resultados se pueden observar en las figuras 1 a 4.

En términos generales los cortes longitudinales de las radículas, indican que al parecer la acción de los compuestos fitotóxicos del extracto de acetato de etilo, se manifiesta principalmente a nivel de la cofia, pero actuando de diferente manera en las dos especies de prueba.

En el caso de Amaranthus, (Figura 1 y 2) se observa especialmente la diferencia entre la estructura de los tejidos de la cofia en una radícula tratada (Figura 2) y una sin tratar (Figura 1).

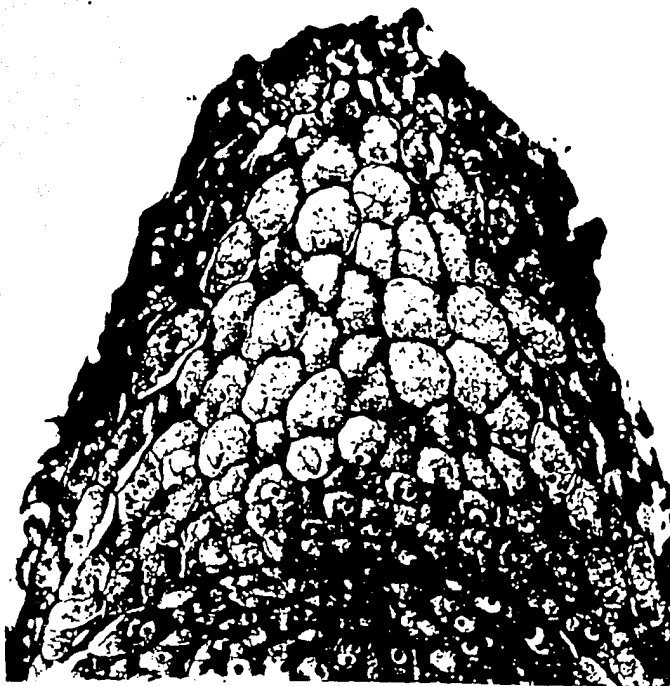


Figura 1. Testigo. Corte longitudinal de cofia de Amaranthus sp.

El efecto más conspicuo se manifiesta en los grandes claros o espacios entre las células de la cofia, debido quizá a un

cambio en la constitución de la lámina media que se vuelve más laxa con la consecuente separación de las células. Otro marcado efecto se refiere al gran número de células plasmolizadas en la cofia de la raíz tratada y aunque en la raíz control, este fenómeno se observa en una que otra célula de la periferia, es evidente que en la raíz tratada, esto se incrementa notablemente y tiene un origen distinto.

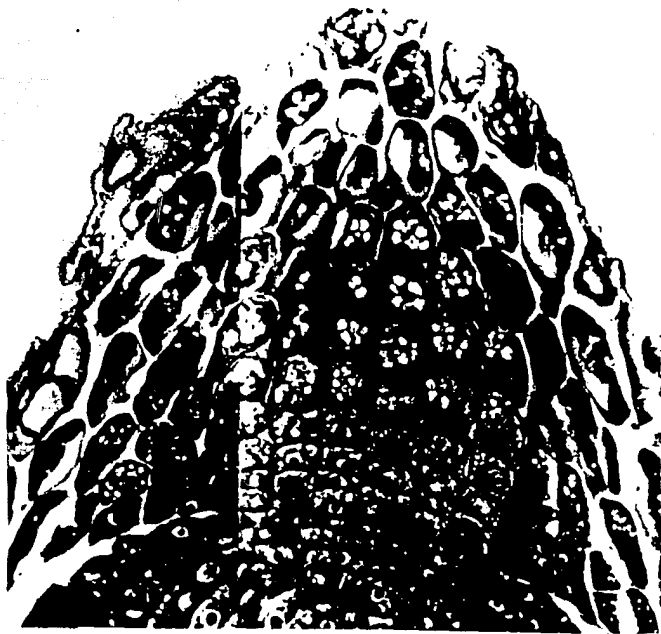


Figura 2. Tratamiento. Cortelongsitudinal de cofia de Amaranthus sp.

En el caso de Echinochloa (Figuras 3 y 4), comparando la raíz testigo (figura 3), con la tratada (Figura 4), también se observa una plasmólisis muy marcada en las células de la cofia, pero a diferencia del efecto ocasionado en Amaranthus, no se ve un cambio en la constitución de la lámina media, éste es claramente distinguible. Las células no se separan, sólo se plasmolizan.



Figura 3. Testigo. corte longitudinal de cofia de Echinochloa crusgalli.

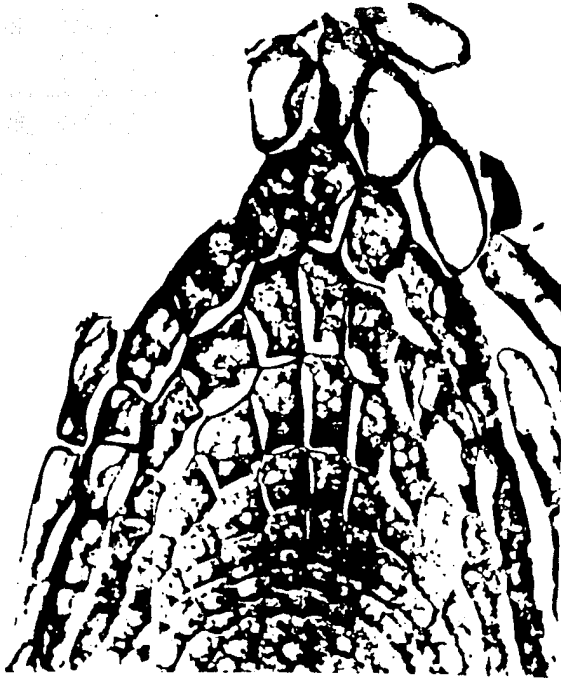


Figura 4. Tratamiento. Corte longitudinal de cofia de Echinochloa crusgalli.

La plasmólisis ocurre generalmente cuando la célula viva se halla en contacto con una disolución hipertónica que provoca la

substracción del agua y la pérdida de la turgencia celular. Este no es el caso, ni en la raíz testigo, ni en la tratada de ambas especies de prueba, ya que las presiones osmóticas de ambos tratamientos eran de 0 mosm/l, lo cual significa que las raíces crecieron dentro de un medio hipotónico.

La plasmólisis que se observa en escasas células periféricas de la cofia en las raíces testigo, puede estar determinada por la degradación natural o envejecimiento de estas células, que terminan por desprenderse de la superficie radicular. En cambio en la cofia de las raíces tratadas, la contracción del protoplasma, no es causa del normal envejecimiento, si no de un estres químico provocado por los compuestos fitotóxicos del extracto del lirio.

Finalmente sumado a los anteriores efectos, encontramos que las células de las raíces tratadas, especialmente en Amaranthus, parecen tener un menor tamaño que las de los testigos, y aparentemente se hacinan, achatándose por el amontonamiento, particularmente alrededor del núcleo quiescente.

Lovett et al (1989) comentan que diversos grupos de compuestos asociados con la alelopatía desempeñan un papel en la comunicación entre plantas y otros organismos y que tal comunicación es parte de las semejanzas en las respuestas que plantas y animales presentan ante el stres, lo que puede contribuir a la defensa de las plantas. Segun estos autores y con base en datos recientes, los efectos de diversos aleloquímicos sobre características o parámetros generales de los órganos u organismos vivos, pueden ser explicados en términos de respuestas

similares a nivel celular. Lovett et al (1989), encuentran que diversas concentraciones de benzilamina y hordenina (alcaloides) provocan un incremento del número y tamaño de las vacuolas y evidencia de fagocitosis en las células de la punta de las raíces de las plántulas de lino y mostaza; además el núcleo se vuelve indefinido y algunas mitocondrias muestran desorganización.

El hecho de aumentar el número de vacuolas parece ser una respuesta frecuente a diversos tipos de estrés. Las células de las raíces de apio, cuando la raíz es atacada por nemátodos, y las de cebolla cuando existen metales pesados como el plomo, en el medio, responden aumentando sus vacuolas.

Según estos autores, existe similitud entre estas vacuolas y las vacuolas autofágicas de ciertos mamíferos y sugieren que los aleloquímicos contribuyen entre otras cosas, a la defensa de la planta bajo estrés.

En la presente investigación, este fenómeno no se observó, sin embargo es importante considerar que no se trabajó con compuestos puros, si no con una mezcla compleja de ellos; además no se realizaron observaciones de cortes semifinos con microscopio electrónico, y esto no permitió hacer un análisis más detallado. A pesar de esto, podemos sugerir, de manera semejante a los comentarios de Lovett et al (op. cit.), que ambas especies reaccionan de manera similar ante el estrés a las que fueron sometidas por el tratamiento con el extracto. Esta reacción semejante está determinada por una reacción celular común, tanto en Amaranthus como en Echinochloa, la plasmólisis.

Por otro lado Horst y colaboradores (1982), mencionan el daño causado, por el exceso de aluminio, en el suelo sobre las

radículas de Vigna unguiculata, entre otras especies. El efecto más obvio es la disminución de la elongación de la raíz, debida a la inhibición de la división celular. El aluminio interfiere con el metabolismo del ADN y puede detener totalmente el proceso mitótico. El mucílago que producen las células de la cofia protegen al meristemo apical del daño causado por el aluminio y con seguridad, por otros elementos y compuestos tóxicos.

Como podemos observar, el aluminio produce un estrés, frente al cual, la planta responde de formas diversas, pero especialmente a través de la secreción de mucílago. El efecto del aluminio sobre las raíces de Vigna es totalmente comparable al que producen muchos aleloquímicos independientemente de su estructura, en especial se manifiesta inhibiendo el crecimiento de la raíz y deteniendo la división celular, aunque debe precisarse que los modos de acción a nivel bioquímico o molecular deben ser distintos (Anaya et al, 1990; Cruz et al, 1987).

Debe considerarse de acuerdo al tercer objetivo de este trabajo, que estos son resultados preliminares sobre un posible efecto a nivel de la estructura celular de la cofia de las radículas de Amaranthus sp. y de Echinochloa crusgalli. Al respecto, es necesario realizar un estudio sistemático, utilizando diferentes técnicas, para comparar resultados y poder llegar a conclusiones definitivas.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, confirman el potencial fitotóxico del lirio acuático Eichhornia crassipes y la presencia en el mismo de compuestos secundarios cuya fuerte actividad biológica es responsable de este potencial.

El crecimiento radicular de Amaranthus y Echinochloa fué significativamente inhibido por los lixiviados de la parte aérea seca del lirio y por los extractos orgánicos de la misma, especialmente el de acetato de etilo y el metanólico.

En relación con esta inhibición, podemos comentar que:

- 1) Es una respuesta al estres químico producido por los compuestos fitotóxicos del lirio
- 2) Está probablemente determinada por el deterioro de la cofia y la consecuente desprotección de los meristemas primarios, lo cual debe afectar la división y quizás la elongación celular.

Es necesario profundizar el estudio del potencial alelopático del lirio acuático desde el punto de vista ecológico, químico, bioquímico, fisiológico y anatómico, pues la cantidad y calidad de metabolitos secundarios que posee le confieren un interés muy especial, no solo desde el punto de vista de las interacciones químicas entre los organismos, sino de su potencial de aplicación en el control de malezas y otros organismos indeseables en los agroecosistemas.

BIBLIOGRAFIA

- Anaya, A.L., et al. 1987. Allelopaty in México. En: Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry. American Chemical Society. pp. 89-101.
- Anaya, A.L., et al. 1987. Perspectives on allelopathy in Mexican traditional Agroecosystems: A case study in Tlaxcala. Journal of Chem. Ecol. Vol 13, No 11. pp. 2083-2101.
- Arnold, C. A. 1940. A note on the origen of the leteral roots of *E. crassipes* (Mart.) Solms. American Journal of Botany (USA) V.27 (9). pp. 728-730.
- Backer, C. A. 1951. Pontederiaceae, Flora Malesiana (Neterlands) V. 1. (4). pp. 255-261.
- Bock, J. H. 1960. The water hyacinth in California Madrono (USA) V. 19. pp.
- Boyd, C. E. 1968. Evaluation of some aquatic weeds as possible foodstuffs. Hyacinth control (USA). V. 7, pp26-27.
- Boyd, C. E. 1969. The nutritive value of three species of water weeds. Economic Botany (USA) v. 23 (2). pp. 123-127.
- Boyd, C. E. 1970. Utilization of aquatic plants In: Mitchell D.S. (ed.) Aquatic vegetation and its use and control. UNESCO, Paris (France) pp. 42-44.
- Boyd, C. E. and Scarsbrook, E. 1975. Influence of nutrient additions and initial density of plants on production of waterhyacint *E. crassipes*. Aquatic Botany (Netherlands) V. 1 (3) pp 253-261.
- Conn, E. E. 1981. The Biochemistry of Plants. Chap. 6. Secondary

Metabolites and Plant Systematics. Biochemistry of
Plants Vol 7 Academic Press Inc. U.S.A.

- Cutler, D.F. 1978. Applied Plant Anatomy Longman. chap 4. The
root. London.
- Dissogi, L.A. 1974. Some aspects of the biology and control of
the waterhyacinth (Eichhornia crassipes Mart.) Solms.
University of Khartoum (Sudan). p. 138.
- Duningan, E. P., Phelan, R. A. and Shamsuddin, Z. H. 1975. Use of
water hyacinth to remove nitrogen and phosphorous from
eutropic waters. Hyacinth Control
Journal (USA) v. 13. pp.59-61
- Gosselt, D. R. and Norris, W. E. 1971. Relationship between
nutrient availability and content of nitrogen and
phosphorous in tissues of the aquatic macrophyte.
Hydrobiologia (Netherlands) V. 38. pp. 15-28.
- Haigh, J. C. 1936. The propagation of Water hyacinth (Eichhornia
crassipes (Mart. Solms) by seed tropical Agriculturist
(Sri Lanka) Ser. A. V. 12. pp.
- Harborne, J. B. 1984. Phytochemical Methods. U.S.A. Chapman and
Hall Ltd. p. 288.
- Horst, W. J. 1982. Mucilage protects meristems from Aluminium
injury. Inst. für Pflanzenernährung, U. H. P. Z.
Pflanzenphysiol. Bd. 105. pp. 435-444.
- ∴
- Jean, C.R. 1980. Atlas of Flowering Plant Structure, Longman chap
1,2. The root apex and root growth, Differentiation in
the root.

- Jensen, S. 1984. Botany Wads Worth Publishing Company. chap. 11
Primary Growt the Root.
- Keeler, R.F. y Tu A. T. 1983. Hanbook of natural toxins. vol. 1.
Plant and fungal toxins. Marcel Dekker, Inc.
- Kozlowski. 1972. Physiological Ecology A series of Monographs,
texts, and treatises: Seed Biology I. Academic Press.
U.S.A.
- Kuhn, S.W. 1989. Growth Patterns Inferred from Anatomical Records
Plant Physiol.
- Kuhn, W. S. 1989. Growth patterns infered from Anatomical
Records: Empirical tests using longisections of roots
of Zea mays L. Plant Physiol. vol. 29.
- La Garde, R. V. 1930. A plant that stopped navegation. Misori
Botanical Garden Bulletin (USA) No 18. pp. 48-51.
- Little, E. C. S. and Henson, I. E. 1967. The water content of
some important tropical eater weeds PANS. Pest
Articles and News Summaries Section C, Weed control
(U. K.) V. 13 (3) pp. 223-227.
- Lovett, J. V. 1989. Allelopathy, chemical communication, and
plant defense. Journal of Chemical Ecology. Vol 15.
No. 4.
- Luckner, M. 1984. Secondary metabolism in microorganisms, plnts
and animals. Springer-Verlag.
- Mannen, Shibata, Kimiko, Y. and Nariyuki, I. 1965. (Univ. Toyana,
Japan). Botan Mag. (Tokyo) 78 (Aug-Sept), 299-305.
Eng. Eichhornin, a new anthocyanin isolated from
flower of water hyacinth.
- Mukherjec, R. K. and Sircar. 1964 Presence of bound auxin in the

- roots of water hyacinth. (University of Calcuta).
Bull. Botan. Soc. Bengal 18 (1-2). pp. 87-90.
- Orville, G. B. 1987. The potential of Allelochemicals. En:
Allelochemicals: Role in Agriculture and Forestry.
American Chemical Society. pp. 2-7.
- Osman, H. E. et al. 1975. Studies on the nutritive value of water
hyacinth (Eichhornia crassipes (Mart.) Solms.) In
OBOID, M. (ed) Aquatic weeds in the Sudan National
Council for Research, Khartoum (Sudan) pp 104-127.
- Parija, P. 1934. Physiological investigations on water hyacinth in
Orissa with notes on some other aquatic weeds. Indian
Journal of Agricultural Sciences (India) v. 4 (3).
pp. 399-429.
- Penfound, W. T. and T. T. Earle 1948. The biology of water
hyacinth. Ecological Monographs (USA) 18 (4).
pp. 447-472
- Peña, A. 1984. Importancia de la ecología Química. Temas Selectos
de Fisiología Celular Mexico D.F. U.N.A.M. pp. 69-99.
- Putnam, A. R., Tang C. 1986. The Science of Allelopathy. Wiley-
Interscience. Canada. pp. 43-56.
- Ray. 1967. Planta Viviente. cap. 7 pp 109-131 Crecimiento y
Desarrollo Vegetal.
- Rice, E. L. 1984. Physiological Ecology: A series of monographs,
texts and treatises The University of Oklahoma
U.S.A. p. 422.
- Roth, I. 1964. Microtecnica Vegetal. Esc. Biología Fac. Ciencias
C. Venezuela. pp. 10-69.

- Salisbury, F. B. 1978. Plant Physiology. Wadsworth Publishing Company. U.S.A. p. 422.
- Salisbury, J. 1984. Botany. Wadsworth Publishing Company California, U.S.A. Chap 11.
- Scultorpe, C. D. 1967. The biology of aquatic vascular plants Edward Arnold, London (UK). p. 610.
- Sinha, S. N. y Sinha L. P. 1969. Studies on use of water hyacinth culture in oxidation ponds treating digested sugar wastes and effluent of septic tank. Environmental Healt, vol 11. pp. 197-207.
- Solms-Lauback, H. Graf zu. 1968. Pontederiaceae. In: Monographiae Phanerogamarum (Germany). pp. 501-535.
- Stuart, K. L. and Cokè, L. B. 1975. The effect of vomifoliol on stomatal aperture. Planta (Berl.) 122. pp. 307-310.
- Sumara, G. and Sircar, S. M. 1964. Cell growth and metabolism of pea (Pisium satirum) internodes as affected by the growth substances from the root of water hyacinth (E. crassipes (Mart.) Solms.) (University of Calcuta). Bull Botan Soc. Bengol 18 (1-2) 86-6.
- Taylor, K. G. and Robbins, R. C. 1968. The amino acid composition of water hyacinth and its value as a protein supplement Hyacinth. Control Journal (USA). v. 7. pp. 24-25.
- Taylor, H. F. and Burden R. S. 1970 Identification of plant growth inhibitors produced by photolysis of violaxanthin. Phytochemistry 9, 2217-2223.
- Thompson, A. C. 1984. The chemistry of Allelopaty: Biochemical

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Interactions Among Plants. U.S.A. ACS (Symposium Series, No. 268). pp. 33-54.

Weber, H. J. 1967. The water hyacinth and its relation to navigation in Florida. Bulletin- Division of Botany USDA (USA) No 18. pp. 1-20.

Wareing, P. F. 1969. Germination and dormancy In "The physiology of Plant Growth and Development" (M. B. Wilkins, ed), pp. 605-644. Mc. Graw-Hill, New York.

Wareing, P. F. 1969. The control of bud dormancy in seed plants Symp. Soc. Exp. Biol. 23, pp. 241-262.

Wareing, P. F. and Ryback. 1970. Abscisic acid: A newly discovered growth-regulating substance in plants. Endeavour, 29. pp. 84-88.

West, C. y Armillas, P. 1950. Las Chinampas de México Poesía y Realidad de los "Jardines Flotantes". Cuadernos Americanos 50: 165-182.

Weier, E. T. 1974. Botany An Introduction to Plant Biology. chap 9. Roots, pp. 149-164.