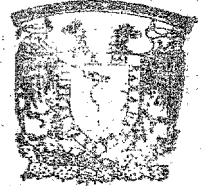


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**



**BIBLIOTECA  
CENTRO DE ECOLOGIA**

**“RESISTENCIA A LA SEQUIA IV:  
EFECTO ANTITRANSPIRANTE DEL ACIDO SALICILICO  
SOBRE FRIJOL” (*Phaseolus vulgaris L.*)**

**T E S I S**

que para obtener el Título de

**B I O L O G O**

p r e s e n t a :

**CARLOS TREJO LOPEZ**

Mexico, D. F., 1981



Universidad Nacional  
Autónoma de México



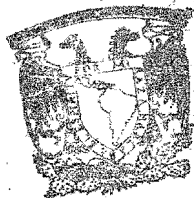
**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

AGRADECIMIENTOS



BIBLIOTECA  
CENTRO DE ECOLOGIA

Quiero manifestar mi agradecimiento al Dr. Alfonso Larqué Saavedra la dirección del presente trabajo, su apoyo constante durante el mismo y al mismo tiempo por permitirme participar dentro de la línea de investigación "Resistencia a la Sequía".

Agradezco al jurado dictaminador la revisión del trabajo.

Dr. Carlos Vázquez Yanes

Dr. Francisco Alfonso Larqué Saavedra

M.C. Ma. Teresa Rodríguez González

M.C. Nelly Diego Pérez

Biól. Minerva Leonor González Ibarra

Al Colegio de Postgraduados las facilidades proporcionadas en el Centro de Botánica para que se llevara a cabo la investigación y por la beca que me fue otorgada.

A todas las personas que trabajan en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Centro de Botánica.

Al M.C. Carlos Rodríguez Zavaleta su ayuda incondicional.

DEDICATORIA

A mi madre Leonor

por su amor, apoyo y dedicación

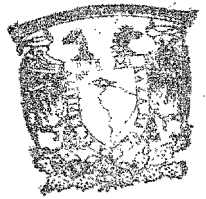
a mis estudios

A mis tres hermanas: Lourdes, Tomy

y Consuelo por su ayuda y su buen ejemplo

significan un motivo de mi superación

A toda mi familia.



BIBLIOTECA  
CENTRO DE ECOLOGIA

## RESUMEN

Se estudió el efecto de aspersiones de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  sobre la transpiración de frijol. Las plántulas fueron cultivadas en el invernadero en vasos de unicel con 300 g. de suelo. Diez días después de la siembra, fueron transferidas a una cámara de crecimiento con un fotoperíodo de 12 horas,  $25 \pm 1^{\circ}C$  (durante las 24 hs),  $145 \mu E^{-2} m^{-2} s^{-1}$  y una humedad relativa de 50%. Cuando las plántulas tenían de 14-15 días de edad, se cubría el vaso con papel aluminio, se tomaba el peso inicial y se llevaban a un mismo peso agregándoles el agua necesario. A partir de este momento las plántulas fueron sometidas a uno de los siguientes tipos de experimentos:

### Experimento tipo I.

Aspersiones de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  que contenían cualquiera de los siguientes humectantes: glicerol (0.25 ó 0.5 ó 1%) ó plyac ó spreader-sticker a una concentración de (1 ó 2 ó 4)\* a un pH inicial de 4.5.

### Experimento tipo II.

Se probó el efecto del pH (3.5, 4.5, 5.5, 6.5 y 7.5) manteniendo constante la concentración del ácido salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  con glicerol 0.5% ó plyac 2.

---

\* Ver hoja # 2 de materiales y métodos.

### Experimento tipo III.

Se comparó el efecto del ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M más glicerol 0.5%, con el efecto producido por ácido abscísico (ABA) a una concentración de:  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  M; pH constante de 5.5.

Los resultados mostraron que el ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M con glicerol 0.5% y  $2 \times 10^{-2}$  redujeron la transpiración en un promedio de  $-12\% \text{ cm}^{-2}$  hoja, con respecto a sus respectivos controles, después de 48 horas de tratamiento. La reducción de la transpiración fue más evidente a pH de 5.5. para las primeras 24 horas. El ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M con glicerol 0.5%, tiene un efecto similar al que produce el ABA  $1.5 \times 10^{-5}$  M, después de 24 horas de tratamiento.

Las implicaciones de esta investigación se discuten.

# I N D I C E

## RESUMEN

1.- INTRODUCCION . . . . .	1
II.- REVISION BIBLIOGRAFICA . . . . .	3
1.1.- Agua y transpiración . . . . .	3
1.2.- Aparato estomático . . . . .	4
1.3.- Como regular la apertura estomatal . . . . .	12
2.0.- Los salicilatos y el control del agua . . . . .	17
2.1.- Penetrabilidad . . . . .	20
III.- MATERIALES Y METODOS . . . . .	26
IV.- RESULTADOS . . . . .	33
V.- DISCUSION . . . . .	51
VI.- BIBLIOGRAFIA . . . . .	57
APENDICE . . . . .	63

## I. INTRODUCCION

El agua es un factor limitante para el desarrollo de las plantas - en ecosistemas terrestres y principalmente en las zonas áridas.

En nuestro país, gran parte del terreno cultivable, dedicado a la producción de frijol y maíz, los dos cultivos básicos en nuestra dieta, está sujeto a las condiciones de temporal (las condiciones de temporal se refiere a los factores climatológicos, fundamentalmente lluvia, que pre dominan en determinada época del año y de los cuales depende la producción de los cultivos).

Es en este problema en donde una gran parte de la investigación ha prestado su atención desde hace muchos años, con el objeto de "ayudar" a las plantas a economizar el agua o incrementar la eficiencia en su uso.

La principal pérdida de agua de un terreno cultivado, ya sea que esté sujeto a temporal o a un suministro de agua por riego, se lleva a cabo por transpiración, ya que la pérdida por evaporación es despreciable, después de que se ha evaporado el agua de la capa superficial del suelo (Gale 1961 citado por Souza 1974).

Prácticamente el 99% del agua, que las plantas absorben del suelo durante su ciclo de vida, es transpirada a través de los estomas. El reducir la velocidad de transpiración sin reducir la fotosíntesis y así mantener un óptimo balance de agua en la planta, es el reto al cual los investigadores se han venido enfrentando desde hace muchos años.



Una de las estrategias que se han usado para regular la transpiración, es el uso de "antitranspirantes", que son sustancias químicas, sintéticas o de origen natural que aplicadas sobre las hojas de los cultivos pueden actuar de dos formas según sus características.

1.- Una acción física, formando una película plástica que impida el paso de vapor de agua a la atmósfera.

2.- Una acción química, en donde actúe directamente sobre la fisiología de los estomas, manteniéndolos parcialmente cerrados, reduciendo la pérdida de agua.

Sin embargo son pocas las sustancias que han dado resultados alentadores, ya que por un lado se obtiene una reducción de la transpiración pero hay efectos negativos debido a su toxicidad o bien reducen la fotosíntesis y por lo tanto reducen el rendimiento de los cultivos, además de que sus costos son muy elevados.

Actualmente, trabajos sobre este tema se han venido publicando en los cuales se propone el ácido acetil salicílico y al ácido salicílico como posibles antitranspirantes, ya que reducen la pérdida de agua de explantes de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y causan una reducción de la apertura estomatal en epidermis desprendidas de *Commelina communis* L. (Larqué-Saavedra 1978, 1979, De León 1979, De León y Larqué-Saavedra 1979).

Con el fin de aportar más conocimientos sobre la acción de estas dos sustancias, en el proceso de transpiración, en el presente trabajo de tesis se planteó el siguiente objetivo: Estudiar el efecto de aspersiones de ácido salicílico a plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Cacahuate), sobre la transpiración.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRAFIA

### 1.1. Agua y Transpiración.

El agua juega papeles esenciales en la fisiología vegetal como constituyente, disolvente, reactivo en varias reacciones químicas, etc.

La importancia del agua se refleja en el hecho de que la distribución de las plantas sobre la superficie de la tierra está dominada por la disponibilidad de agua.

Cerca del 99% del agua que absorben las plantas, pasa a la atmósfera en forma de vapor; menos del 1% es usada por la planta en reacciones bioquímicas como fotosíntesis e hidrólisis, en la hidratación del protoplasma y pared celular, en el mantenimiento de la turgencia celular, o en otras diferentes funciones (Greulach 1973).

Casi toda el agua que absorben las plantas, la cual difunden a la atmósfera, se pierde por el proceso de "Transpiración", que se define como: la pérdida de agua de las plantas en forma de vapor (Kramer 1974).

La transpiración es el factor dominante en las relaciones hídricas de las plantas, porque produce el gradiente de energía que provoca el movimiento del agua hacia dentro y a través de las plantas.

Los valores de agua que se pierden por transpiración, son muy variables y pueden fluctuar dependiendo de las condiciones externas e internas a que están sometidas las plantas.

La transpiración está influenciada principalmente por dos clases de factores.

1.- Factores ambientales (temperaturas, humedad relativa, viento, etc.).

2.- Factores que determinan los movimientos del agua a través de la planta (gradientes de potencial de agua y la resistencia de varios tejidos) (Impens *et al.* 1967), los cuales al combinarse nos dan el coeficiente de transpiración de diferentes plantas y especies (coeficiente de transpiración, se define como: la cantidad de agua necesaria para producir 1 kg. de materia seca; Aguilera y Elizondo 1980).

Dentro del segundo grupo de factores que afectan la transpiración y que comprenden principalmente la morfología de la planta, se puede considerar a las hojas como los sitios más importantes de transpiración y dependiendo de sus características (tamaño, tipo de tejidos que la constituyen, estructuras para intercambio gaseoso, forma, etc.), proporcionan a las plantas la propiedad de que unas sean más eficientes en la economía del uso del agua que otras.

Son tres los sitios de la planta a través de los cuales se puede llevar a cabo la transpiración:

- 1.- Lenticelas
- 2.- Cutícula
- 3.- Estomas

Sin embargo la mayor parte de la transpiración es a través de los estomas y una pequeña fracción es lenticelar y cuticular (Greulach 1973).

#### 1.2. Aparato Estomático.

Los estomas están comunmente localizados en la epidermis de las hojas, pero también se pueden encontrar en la epidermis de otros órganos aéreos de las plantas, incluyendo tallos herbáceos y en varias partes de flores y frutos.

El número de estomas por unidad de área, varía no únicamente entre especies sino que puede variar dentro de una misma, debido a la influencia de factores ambientales durante su desarrollo. El número de estomas en el lado abaxial (superficie inferior de la hoja) de las hojas, frecuentemente excede al lado adaxial (superficie superior de la hoja), en donde éstos pueden estar ausentes. Las hojas con estomas en ambos lados de la epidermis son llamadas anfiestomáticas y las hojas con estomas únicamente en el lado abaxial, son llamadas hipoestomáticas.

También la forma y tamaño varía de una especie a otra, encontrándose generalmente dos tipos de estomas: forma elíptica y forma graminoides (Meidner y Mansfield 1968).

En el frijol y generalmente en muchas especies de dicotiledones, los estomas son de forma elíptica, su densidad por  $\text{cm}^2$  de hoja es de la do abaxial 29100 y lado adaxial 400, siendo su tamaño promedio de 7 x 3 micras (Cutter 1969).

Un estoma consiste de un poro rodeado por dos células, llamadas células oclusivas o de cierre. Las células epidérmicas adyacentes a las células oclusivas, en algunos casos pueden diferenciarse en cuanto a forma y a su ontogenia de las demás células epidérmicas y suelen llamarse células subsidiarias (ver figura 1).

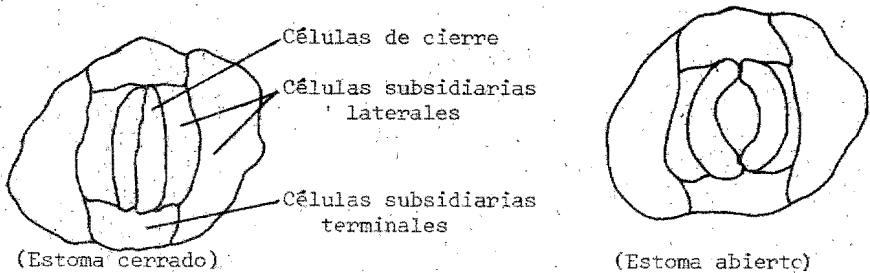


Fig. (1)

Estoma de forma elíptica  
*C. communis* L.

Actualmente se le llama "aparato estomático" a las células oclusivas, células subsidiarias y el poro estomatal u ostiolo (Davies 1980).

Generalmente las células de cierre contienen cloroplastos, aunque se sabe que no llevan a cabo todas las funciones de los cloroplastos de las demás células del mesófilo (Cutter 1969). Sin embargo, la clorofila está presente y hay una asimilación activa aparente dentro de las células de cierre. En algunas especies las células oclusivas, pueden diferenciarse además de las células epidérmicas, en el contenido de pigmentos o de cristales y proteínas en su interior.

En la mayoría de los aparatos estomáticos, las células oclusivas - presentan un engrosamiento en sus paredes de la parte interna del poro, presentando también estructuras radiales. Estas dos características - son las que van a dar la propiedad de cambiar de forma y llevar a cabo el movimiento de apertura y cierre (Meidner y Mansfield 1968).

La apertura y cierre estomatal tiene como principal función, manter un intercambio gaseoso principalmente de bióxido de carbono y oxígeno y al mismo tiempo mantener un adecuado balance hídrico dentro de la planta.

Estos movimientos de apertura y cierre estomatal, están en función de la turgencia de las células de la epidérmis. El movimiento estomatal se puede llevar a cabo, ya sea por las células oclusivas o por las células subsidiarias; por lo tanto, aunque las células de cierre no cambien su turgencia, las células subsidiarias al cambiar su turgencia estimulan la apertura o cierre. En muchas ocasiones se dice que es función de ambas (Davies 1980).

Generalmente esta apertura y cierre estomatal, se ve afectada por

diferentes factores ambientales; Mansfield, (1971) hace un estudio de los principales factores que afectan entre proceso:

1.- Las concentraciones bajas de bióxido de carbono ( $CO_2$ ) estimulan la apertura y las concentraciones altas suprimen la apertura de los estomas.

2.- El aumento en la temperatura dentro de los tejidos afecta la apertura y cierre, dependiendo también de las concentraciones de  $CO_2$ .

3.- El tiempo en que están expuestos a la luz y obscuridad. Generalmente la luz estimula y la obscuridad suprime la apertura.

4.- Contenidos de humedad en la atmósfera. Condiciones de alta humedad, favorecen la apertura estomatal.

5.- La disponibilidad de agua. Cualquier déficit apreciable de agua en la planta, causa la apertura estomatal.

Sin embargo aunque se sabe que la apertura y cierre estomatal, en respuesta a la luz y otros estímulos ambientales, es el resultado de tensiones hídricas, no existe todavía una explicación satisfactoria de los procesos bioquímicos que activen estos cambios de turgencia dentro de las células.

Heath, (1949) hace una revisión de las teorías que se habían venido manejando hasta entonces y al mismo tiempo expone los resultados de experimentos que él realizó, sobre la apertura y cierre de los estomas en *Pelargonium zonale* concluyendo y al mismo tiempo apoyando la teoría de la conversión almidón  $\longleftrightarrow$  azúcar. Para esta teoría se explica el proceso de apertura y cierre estomatal de la siguiente forma:

1.- Con la luz la fotosíntesis se inicia en las células oclusivas.

2.- Esta reduce la concentración de  $\text{CO}_2$  y por lo tanto de ácido carbónico, de este modo, se obtiene un incremento de pH de 5 a 7.

3.- Esta reducción en acidez promueve la reacción de almidón con fosfato en las células oclusivas, con la producción de glucosa-1-fosfato (G-1-P); la G-1-P es convertida a G-6-P, la cual a su vez es convertida en glucosa y fosfato.

4.- La adición de estos solutos reduce el potencial de agua de las células oclusivas, causando una entrada de agua por difusión de las células epidérmicas adyacentes.

5.- Como resultado, la presión de turgencia de las células oclusivas se incrementa, causando la apertura de los estomas.

6.- El cierre de los estomas cuando ha terminado la fotosíntesis y también la luz, se lleva a cabo con la supresión de los eventos anteriores (Milburn 1979).

Trabajos realizados por Fischer (1968) con epidermis desprendidas de *Vicia faba* incubadas en soluciones con bajas concentraciones de cloruro de potasio (KCl), encontró que la apertura estomatal se debía a una acumulación activa de iones potasio ( $\text{K}^+$ ) dentro de las células oclusivas, en cantidades suficientes como para explicar los cambios del potencial de solutos y de volúmen dentro de las células oclusivas. Sus resultados, continúa el autor, sugieren que el mecanismo de apertura es estimulado por la acumulación de iones  $\text{K}^+$  y que además apoyan la hipótesis de acumulación de solutos para explicar la apertura estomatal. También sus resultados confirman los resultados de Fujino (1960) citado por el autor, quien fue uno de los primeros, que encontró una acumulación -

activa de iones  $K^+$  en las células oclusivas, cuando se producía apertura estomatal.

El autor sugiere que la hidrólisis de almidón, relacionado con la apertura estomatal, tenga un papel secundario o que sea una parte integral del mecanismo de transporte de iones  $K^+$ .

Humble y Raschke (1971) encontraron que cuando se produce la apertura estomatal en *Vicia faba*, se incrementaban los contenidos de solutos de las células oclusivas y además iones  $K^+$  fueron transportados dentro de cada par de células oclusivas. Este transporte de iones  $K^+$  se asoció con aniones dibásicos para su balance, en suficientes cantidades como para producir los cambios de volumen y presión osmótica de las células oclusivas.

Análisis de cloro, fósforo y azufre mostraron que estos elementos no fueron transportados en cantidades elevadas durante la apertura estomatal. Los autores sugieren que el balance aniónico de  $K^+$ , fue predominantemente orgánico (Ácido málico). Estos resultados son apoyados por los trabajos realizados por Allaway (1973), quien encontró que en las células oclusivas e iluminadas de *Vicia faba*, el contenido de potasio aumentó de 90 a 335 picequivalentes  $mm^{-2}$  y el malato de cero a 71 pice moles  $mm^{-2}$  manteniéndose los estomas abiertos. En la oscuridad, el contenido de potasio disminuyó en las células oclusivas; el ácido málico permaneció en cero y los estomas se mantuvieron cerrados.

Sin embargo Travis y Mansfield (1977) en trabajos realizados con *C. communis*, concluyeron que el transporte o la producción de malato en las células oclusivas o subsidiarias no es una parte esencial del mecanismo estomatal.



Los problemas que hay para explicar el mecanismo de apertura y cierre y la forma en que se incrementa la concentración de solutos dentro de las células oclusivas, todavía es materia de disputa. El punto de vista tradicional es que el cambio se ocasiona por una conversión almidón azúcar. Sin embargo actualmente se considera que la acumulación de iones  $K^+$  dentro de las células oclusivas, es la causa principal de cambios de turgencia que induce la apertura estomatal.

El llegar a comprender los mecanismos de apertura y cierre estomatal, nos abre la posibilidad de intervenir en la transpiración. La pérdida de agua por transpiración, por ejemplo, después del trasplante permitiría que las plantas mantuvieran un equilibrio hídrico adecuado - hasta el restablecimiento de su sistema de raíces. La reducción de la transpiración durante la sequía permitiría que los cultivos sobrevivieran con el mínimo de daño.

El evitar que el vapor de agua escape de las hojas, actuando directamente en la regulación de la apertura y cierre de los estomas, es la base fundamental del reto.

El primer intento en tratar de reducir la transpiración, consistió en recubrir las plantas con una película impermeable que reduzca el escape de vapor de agua. Varias clases de películas, como emulsiones de látex, ceras polivinílicas, polietileno, acrilato vinílico, así como alcoholes de cadena larga (el hexadecanol por ejemplo), se han venido usando como "antitranspirantes" formadores de películas (Davenport, *et al.* 1969). Estos investigadores aplicaron a hojas de *Nerium oleander*, emulsiones que forman películas y encontraron que dos horas después de la aplicación hubo una mayor reducción de la fotosíntesis que de la transpiración.

Davenport y colaboradores, (1974) concluyeron que los antitranspirantes que forman películas y que por constituir una barrera física en el intercambio de gases a través de las hojas, pueden suprimir el crecimiento y la producción de un cultivo anual, aunque esto no sucedería si el cultivo se encontrara bajo un "stress" de agua. En cultivos perenes, el crecimiento de algunas de sus partes pueden ser favorecidas por tratamientos aplicados en el tiempo adecuado. Sin embargo, continúan los autores, para cada cultivo y condiciones de crecimiento, se deben determinar las concentraciones del antitranspirante y el tiempo adecuado en el cual se aplique. Finalmente los autores sugieren que se deben desarrollar materiales, los cuales tengan una mínima resistencia al paso de gases, pero no al vapor de agua.

Trabajos realizados en la Universidad de California desde 1972 mostraron que las aplicaciones de emulsiones cerosas en huertos de árboles, incrementaron el tamaño del fruto por reducir la pérdida de agua. Igualmente trabajos realizados en cerezos aplicándoles sustancias antitranspirantes antes de la cosecha, incrementaron su tamaño. Los resultados indicaron que las aspersiones de antitranspirantes fueron benéficas en cuanto al tamaño del fruto se refiere (Urie *et al.* 1975).

El empleo de películas sobre las hojas formando una barrera física a la pérdida de vapor de agua no es muy prometedor, por que son relativamente impermeables al  $CO_2$  reduciendo la fotosíntesis y como consecuencia el crecimiento.

La aplicación de sustancias que provoquen el cierre parcial de los estomas, parece que es más prometedor, porque con un cierre parcial de los estomas, se reduciría más la transpiración que la fotosíntesis (Zelitch y Waggoner 1962).

### 1.3. Como Regular la Apertura Estomatal.

Ciertas variedades de fungicidas, herbicidas, inhibidores metabólicos y reguladores del crecimiento, han sido reconocidos como reductores de la transpiración por provocar el cierre de los estomas.

Walker y Zelitch (1963) fueron de los primeros que trabajaron con inhibidores metabólicos, principalmente con el acetato de fenil mercurio (PMA), ácido clorogénico y arsenato de potasio entre otros. En 1962 fueron aplicados a plantas de maíz y tabaco diferentes inhibidores metabólicos (PMA, 8-hidroxiquinona (8-HQ) y sodio  $\alpha$  - hidroxidecanosulfonato) y encontraron que el PMA en concentraciones de  $10^{-4}$  M, cerró los estomas, persistiendo el efecto más de 14 días (Zelitch y Waggoner 1962).

Zelitch (1964) aplicó bajas concentraciones de ácido alkenilsuccínico y algunos de sus derivados, en hojas de tabaco, provocando cierre estomatal. El monometil éster del ácido fue el más efectivo de los compuestos. El cierre estomatal inducido con esta sustancia, fue acompañado por una significativa reducción en los valores de transpiración. El autor sugiere que esta inhibición de la apertura estomatal, probablemente se deba a una alteración en la permeabilidad de la membrana de las células oclusivas.

Mishra y Pradhan (1968) asperjaron plantas de tomate con reguladores del crecimiento (cloruro de 2 cloroetil-trimetilamonio (CCC) y ácido N,N-dimetilaminosuccinámico (B-9) y los fungicidas (PMA y 8-HQ), reduciendo la pérdida de agua por transpiración en 20 y 35% e induciendo el cierre estomatal aproximadamente en 10-33% durante un período de 6 días. El orden de efectividad de estos productos en inducir cierre estomatal y retardar el marchitamiento de las plantas fue el siguiente:

PMA > CCC > B-9 > 8-HQ. Sin embargo el peso seco al final del tratamiento, fue menor en los tratamientos, comparados con el control. Los autores piensan que estos compuestos químicos posiblemente afectan a los factores involucrados en incrementar la turgencia de las células oclusivas, las cuales regula la apertura estomatal.

Estos mismos autores en 1972 asperjaron: PMA, 8-HQ, CCC y B-9 en plantas de tomate de 37 días. El CCC incremento el número de flores, CCC y PMA aceleraron la floración. La producción no se redujo significativamente. La apertura estomatal se redujo 88% inmediatamente después de haber sido asperjadas con PMA y CCC; 6 días después de la aspersión, la reducción en la apertura estomatal fue únicamente de 30 a 40%, el marchitamiento de las plantas se retrasó 8 días con PMA y 4 días con CCC.

El PMA ha sido uno de los compuestos más prometedores para provocar el cierre de los estomas, reduciendo en forma significativa la transpiración. Desgraciadamente se han producido algunos casos de toxicidad debido al efecto tóxico residual del mercurio; porque además de causar cierre estomatal inhibe la fotosíntesis y también puede ser un contaminante del ambiente muy peligroso (Jones y Mansfield 1970, Tucker y Mansfield 1971 y Davies *et al.* 1978).

El CO<sub>2</sub> ha sido establecido como un inhibidor de la apertura estomatal sin causar daño a las plantas (Jones y Mansfield 1970), pero sus aplicaciones son limitadas, ya que únicamente se podría utilizar en espacios cerrados. Sin embargo el descubrimiento de compuestos que causan un cierre estomatal y que son producidos endógenamente en las plantas en respuesta a un "stress" de agua, abrió nuevamente la posibilidad

de la aplicación de antritranspirantes exógenamente y además por ser -  
compuestos naturales de las plantas, sus efectos podrían ser no tóxicos.

Wright en 1969 descubrió que se incrementaban los niveles de "in-  
hibidor-  $\beta$ " dentro de las hojas de trigo, cuando estas eran expuestas a  
un período de desecamiento y sugirió que la inhibición de procesos fi-  
siológicos causados por un "stress" de agua, podrían ser regulados por  
un incremento en los contenidos del "inhibidor-  $\beta$ " dentro de las plan-  
tas.

Wright y Hiron (1969) aplicaron períodos de desecación a hojas de  
trigo y encontraron que los extractos ácidos de las hojas de trigo co-  
rrespondían a ( $\pm$ ) ácido abscísico (ABA). Estos resultados fueron confir-  
mados utilizando dispersión óptica rotatoria. Deducciones basadas en -  
estos resultados, les sugirió que el ABA es el principal inhibidor del  
crecimiento en condiciones de "stress" y principalmente el causante del  
cierre estomatal. Similares incrementos en hojas de otras especies co-  
mo: algodón, pera y frijo han sido encontrados.

Simple aplicaciones de soluciones de ABA a una concentración de  
 $10^{-3}$ M a hojas de *Xanthium pennsylvanicum*, causaron un cierre estomatal  
durante 9 días (Jones y Mansfield 1970). Utilizando epidermis despren-  
didas de *C. communis* L. se observó una disminución progresiva de su -  
apertura estomatal cuando fueron incubadas en soluciones de ABA en con-  
centraciones de  $10^{-8}$  a  $10^{-4}$ M (Tucker y Mansfield 1971).

Hiron y Wright (1973) encontraron que cuando se aplicaron flujos  
continuos de aire en hojas de frijol, estas se marchitaron y recobraron  
su turgencia gradualmente. Este proceso de adaptación fue acompañado  
por un incremento en los niveles de ABA en las hojas y un incremento en

la resistencia a la difusión. Esto les sugirió que el déficit hídrico en las hojas inducido por el flujo de aire, causó el incremento de ABA y el cual fue responsable de estimular el cierre estomatal.

Larqué-Saavedra y Wain (1974) compararon la capacidad del maíz latente (resistente a la sequía) con otros dos menos resistentes. Se encontró que cuando estas plantas fueron sometidas a las mismas condiciones de desecación, el maíz "latente" produjo más ABA que las otras dos variedades, indicando nuevamente el importante papel de este inhibidor en las plantas sujetas a sequía.

Cuando se le quita el agua a una planta de tomate, la planta al -marchitarse responde produciendo ABA en sus hojas en cantidades de hasta cincuenta veces el nivel normal. Esto produce primeramente inhibición del crecimiento de la planta, lo cual ayuda a conservar la energía; en segundo lugar se induce el cierre de los estomas de las hojas, reduciendo así la pérdida de agua por transpiración. A través de estos dos mecanismos, la formación endógena de ABA proporciona a la planta una mayor oportunidad de supervivencia durante el período de sequía (Wain - 1979).

Ogunkanni y colaboradores (1974) examinaron la aparición de compuestos endógenos capaces de inducir cierre estomatal con "efecto anti-transpirante", en plantas de sorgo que estuvieron sujetas a diferentes grados de "stress" hídrico. Extractos ácidos contenían incrementos de ABA conforme el "stress" se incrementó, pero otro compuesto altamente activo fue distinguido y también fue acumulado por la planta. Este compuesto identificado en extractos neutros fue el transfarnesol, un al--cohol isopropenoide que al igual que el ABA es un sesquiterpenoide. Va

varias soluciones diluidas de farnesol comercial, indujeron cierre estomatal cuando se aplicaron a epidérmis desprendidas de *C. communis* L. En el mismo año Wellburn y colaboradores (1974), analizaron extractos de *Sorghum sudanese* que habían estado sujetos a "stress" hídrico y encontraron incrementos en los niveles del sesquiterpenoide, diferente del ABA. Análisis físico-químico como: infra rojo, resonancia magnética nuclear, análisis espectral de masas, purificación por cromatografía de gases, etc., mostraron la presencia definitiva del transfarnesal.

Wilson y Davies (1979) estudiaron en cuatro líneas de maíz y sorgo el efecto de diferentes ciclos de "stress" hídrico; cuando el potencial de agua disminuyó, encontró que hubo incremento en los niveles de farnesol. El cierre estomatal estuvo correlacionado con los incrementos de los antitranspirantes endógenos.

Estos dos compuestos que se producen endógenamente en las plantas cuando se encuentran en condiciones de "stress" hídrico, volvieron a abrir una vez más la posibilidad de su aplicación exógenamente para inducir cierre parcial de los estomas, afectando en mayor grado la transpiración que la fotosíntesis e incremento de la eficiencia del uso del agua.

Davies *et al.* (1978) indican que, "todos los trabajos que se han venido desarrollando sobre la posible acción antitranspirante del ABA y el farnesol, sugieren que hay una ventaja en las aplicaciones exógenas. El cierre parcial de los estomas, provocaría que los valores de transpiración fueran bajos, provocando un retraso en el desarrollo de "stress" de agua, el cual si se presentara provocaría daños no reversibles a las plantas".

El mecanismo de acción sobre el cierre estomatal del ABA y del farnesol aún no se comprende. Sin embargo hay bastantes evidencias de que el ABA afecta el flujo iónico y metabólico del complejo estomatal y ha sido bien establecido que el ABA actúa directamente en las células oclusivas afectando el cierre de los estomas (Itai *et al.* 1978).

El ABA que se produce en las hojas es sintetizado fundamentalmente por el mesófilo; el 96% está acumulado dentro de los cloroplastos y cuando se libera se induce una nueva síntesis y distribución del ABA.

Actualmente se está proponiendo que el ABA funciona como un "amplificador" y existe la posibilidad de que el farnesol sea la señal para prevenir el cierre estomatal en respuesta a la sequía. El farnesol tal vez no sea un antitranspirante, de tal forma que la planta lo produce y su acción sea alterar la permeabilidad de la membrana de los cloroplastos, permitiendo que salga el ABA y éste lleve a cabo el cierre de los estomas (Davies 1980).

Enmarcado dentro de esta búsqueda de "antitranspirantes naturales", recientemente se han venido desarrollando una serie de trabajos iniciados por Larqué-Saavedra (1975) sobre la posibilidad de usar a los salicilatos como "antitranspirantes".

#### 2.0. Los Salicilatos y el Control del Agua.

Los salicilatos es un grupo de compuestos que se derivan del ácido salicílico y los cuales son conocidos desde hace mucho tiempo, principalmente por utilizarse en la medicina humana.

Los salicilatos que son usados más frecuentemente en la medicina son: el salicilato de sodio y el ácido acetil salicílico (ASA), como



analgésicos y antipiréticos. (Satinoff 1972, Barker y Levitan 1971).

El estudio del papel fisiológico de los salicilatos se ha hecho principalmente en animales, en donde se ha concluido que su acción se debe principalmente a efectos inhibidores de procesos metabólicos, (Hurlbut 1965, Anmer y Ferrero 1970 citados por Barker y Levitan 1971).

Barker y Levitan (1971) estudiaron el efecto de salicilatos sobre el comportamiento de la membrana en neuronas del molusco *Navanax* y encontró que los salicilatos pueden alterar el potencial y la resistencia de la membrana en un lapso de segundos, concluyendo que este efecto refleja cambios en la permeabilidad de la membrana, más que alteraciones en procesos metabólicos. Esta conclusión se basa en que la permeabilidad se vio afectada; aumentándose para los iones potasio ( $K^+$ ) y disminuyendo para los iones de cloro ( $Cl^-$ ). Este mismo efecto se ha encontrado en membranas de eritrocitos, en donde los salicilatos incrementaron la permeabilidad a los cationes y disminuyeron la permeabilidad de los aniones (Wielh 1969 citado por Barker y Levitan 1971).

En el reino vegetal se encuentra el ácido salicílico en forma libre, formando ésteres o en forma de glucosido, principalmente en las Salicaceas (sauce, chopo y alamo; Focus 1965). No obstante la presencia de salicilatos en las plantas, se ha estudiado muy poco el papel fisiológico que desempeñan dentro de ellas.

Cleland y Ajami (1974) encontraron que plantas de día corto como *Xanthium strumarium*, contienen una sustancia activa que juega un papel importante en la floración y que además es capaz de inducir floración en plantas de día largo como *Lemna gibba* G3.; esta sustancia ellos la identificaron como ácido salicílico.

Sin embargo la interpretación de estos resultados es complicada, ya que aplicaciones exógenas de ácido salicílico a *Pharbitis nil*, redujeron la floración (Groenwald y Visser 1974 citado por Larqué-Saavedra 1978).

Investigaciones hechas por Oota (1974 citado por Larqué-Saavedra 1978), reportan que el ácido salicílico eliminó los requerimientos de luz de *Lemna gibba* G3., probablemente por alterar la permeabilidad de la membrana al ion potasio ( $K^+$ ).

Larqué-Saavedra (1975) encontró que altas concentraciones de ASA inhiben la elongación de raíces y el crecimiento del coleoptilo de trigo. También reporta (1978), que el ASA en una concentración de  $10^{-3}M$  suministrado por el peciolo de explantes de frijol, reduce la transpiración en 43% con respecto a su testigo. El mecanismo de acción de ASA en las plantas, podría deberse a una interferencia en la fosforilación oxidativa y ocurriera una estimulación de la respiración subcelular, afectando los niveles de  $CO_2$  dentro de la hoja y de esta forma inducir cierre estomatal.

De León (1979) en su tesis de maestría, desarrollo experimentos con epidermis desprendidas, encontrando que con pH's superiores a 5.5. el ASA no provocó el cierre de los estomas abiertos de *C. communis*. Con pH's entre 4 y 5.5 la concentración de ASA  $10^{-2}M$  provocó el cierre casi completo de los estomas de *C. communis*., aunque la prueba de vitalidad del rojo neutro, sugirió que el cierre causado por el ASA estuvo mediado por un daño a las células oclusivas.

En experimentos con epidermis sin desprender, el ASA  $10^{-2}M$  causó una disminución de 30% en la apertura de estomas abiertos de *C. communis*.

La prueba de vitalidad con rojo neutro, mostró que dicho cierre no estuvo mediado por efectos dañinos sobre las células oclusivas de *C. communis*. La concentración de iones ( $K^+$ ) en las células de cierre fue proporcional a la apertura estomatal.

La aspersion de sustancias químicas a las hojas como: herbicidas, fungicidas, fertilizantes, antitranspirantes, etc., ha sido una nueva innovación en la agricultura hoy en día. Muchos de estos materiales actúan permaneciendo únicamente en la parte superficial de las hojas, pero sin embargo otros materiales como: reguladores de crecimiento (incluyendo herbicidas), fungicidas, antibióticos y fertilizantes, son efectivos únicamente cuando penetran dentro de la hoja.

### 2.1. Penetrabilidad.

La cutícula cerosa que cubre a la pared externa de las células epidérmicas en las hojas, es la primera barrera en la penetración de cualquier material. Esta cutícula está compuesta por láminas de cera con grosores y dimensiones muy diferentes de unas y otras. La composición química de esta capa cerosa es de: lípidos, ácidos grasos o hidrocarburos que contienen de 21 a 35 átomos de carbono. La distribución de ésta capa cerosa dentro y sobre las hojas puede ser muy variada, ya que en algunas especies suele encontrarse únicamente sobre la superficie y en otras especies puede penetrar al mesófilo y distribuirse a ciertas áreas como por ejemplo los estomas, en donde se ha encontrado que las células oclusivas están envueltas por una capa cerosa bien distribuida (Herbert 1970).

No obstante se cree que ésta cutícula no es impermeable; la penetración cuticular ha sido ampliamente demostrada con aplicaciones de -

químicos sobre hojas hipostomáticas y en aplicaciones realizadas en la obscuridad, cuando los estomas están cerrados. Sin embargo la naturaleza exacta de la penetración cuticular no es bien conocida. Algunos investigadores sugieren cambios preferenciales de entrada como: células epidérmicas que se encuentran sobre nervaduras, por la base de tricomas y a través de estomas abiertos (Dybing y Currier 1961).

La penetración de líquidos dentro de espacios intercelulares de las hojas a través de estomas abiertos, ha recibido una considerable atención, tal vez por ser la vía preferente de penetración en las hojas. Sin embargo la explicación de las evidencias de penetración estomatal por soluciones acuosas, es complicada. Soluciones acuosas con una tensión superficial igual a la del agua pura, no pasan a través del poro estomatal. Pero la penetración ha sido observada cuando la tensión superficial de las soluciones ha sido disminuída por la adición de un humectante o sustancia tensoactiva o cuando se aplica una presión externa. El mecanismo de penetración estomatal por soluciones acuosas es muy complejo. La tensión superficial de las soluciones no es el único factor determinante en este proceso; sino que el ángulo de contacto formado por las soluciones con la superficie y la morfología de la pared del poro, pueden ser igualmente importantes (Schönherr y Bukovac 1972).

Gray (1955) estudió el efecto de penetración a través de hojas de frijol por aspersiones de estreptomicina con diferentes agentes humectantes. El encontró que, la adición de 1% de glicerol a las soluciones de estreptomicina, incrementó diez veces la absorción en un período de 24 horas, 0.5% de glicerol incrementó en seis veces la absorción y 0.25% de glicerol incrementó cuatro veces la absorción de estreptomicina. Re

sultados similares se obtuvieron con hojas de tomate, papa y tabaco; la utilización de diferentes agentes humectantes no igualaron el efecto del glicerol.

El mecanismo por el cual el glicerol incrementó la absorción de estreptomicina, tal vez se deba a que el glicerol puede incrementar la permeabilidad de la hoja o que por su baja volatilidad permanezca más tiempo sobre la hoja con la estreptomicina.

En 1961, Dybing y Currier estudiaron la penetración de herbicidas y nutrientes con métodos de fluorescencia, trazadores radioactivos y precipitación; encontraron que hubo penetración estomatal de las soluciones cuando se adicionó un humectante eficiente y en la concentración adecuada. La concentración del humectante utilizado varió con respecto a las especies utilizadas en las pruebas; siendo *Phaseolus vulgaris* el que requirió de una alta concentración del humectante para la penetración estomatal.

Eddings y Brown (1967) establecieron que la ruta más importante en la absorción de fierro ( $Fe^{+3}$ ), fueron los estomas en hojas de varias especies cuando estas fueron sumergidas en las soluciones y se encontró una correlación entre el área estomatal y la absorción. Los tratamientos realizados en la luz, absorbieron más que los tratamientos realizados en la obscuridad. El uso de un humectante incrementó notablemente la absorción.

Tomando en cuenta la morfología de los estomas de *Zebrina purpusii* y haciendo la analogía con un capilar cónico divergente, (Schönherr y Bukovac 1972), se determinó la penetración de líquidos a través de los estomas abiertos, en base a la teoría del ascenso capilar. Los resul-

tados mostraron que únicamente líquidos con una tensión superficial menor que la tensión superficial crítica, medida en la superficie abaxial de las hojas, penetraron al estoma y a la cámara subestomática espontáneamente. La tensión superficial crítica de 25 y 30 dinas  $\text{cm}^{-1}$  observada para la superficie de las hojas, indicaron que grupos principalmente  $-\text{CH}_3$  y  $-\text{CH}_2$  están expuestos en la superficie.

La penetración de soluciones acuosas en hojas de pera fue inducida con humectantes. La efectividad de los humectantes en promover la penetración estomatal, estuvo relacionada con su efectividad en disminuir la tensión superficial de las soluciones. No hubo evidencia de penetración de las soluciones cuando su tensión fue aproximadamente de 70 dinas  $\text{cm}^{-1}$  (Greene y Bukovac 1974).

Además de las dificultades que se encuentran para determinar el mecanismo por el cual la penetración foliar se lleva a cabo, ésta se ve afectada por una serie de factores como:

Humedad.- Una humedad elevada, sobre la superficie externa y baja tensión de humedad dentro de la planta, favorecen una rápida absorción foliar. La mayor absorción bajo condiciones de alta humedad puede ser debido a una mayor penetración estomática, pues hay evidencias de que las células oclusivas se hinchan con una mayor presión de turgencia y se abra la apertura estomática.

Luz.- Generalmente se ha encontrado que la luz aumenta la absorción, se considera que la luz promueve la absorción al causar la apertura de los estomas, aumentando así la fotosíntesis y la exportación de carbohidratos.

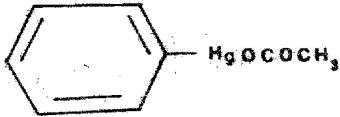
Temperatura.- Se ha sugerido que la temperatura puede influir sobre la velocidad y la cantidad de difusión de sustancias lipofílicas a través de membranas que contienen lípidos al reducir la viscosidad de las moléculas grasas orientadas en capas como micelas.

pH.- El pH de una solución aplicada, afecta la facilidad de la penetración cuticular ya que influye sobre la polaridad de la cutícula y del penetrante, la acidez reprime la ionización de las moléculas, encontrándose que moléculas sin disociar, penetran más fácilmente y las cuales se fraccionan más fácilmente en fases lipofílicas.

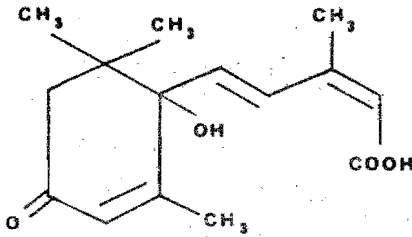
Humectante.- En general, el agregar humectante a las soluciones, aumenta la penetración por reducir la tensión superficial aumentando la humectabilidad con la hoja (Robertson y Kirkwood 1969).

En base a las investigaciones revisadas (marco de referencia), en el presente trabajo se planteó investigar el efecto "antitranspirante" del ácido salicílico en plantas intactas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Cacahuate).

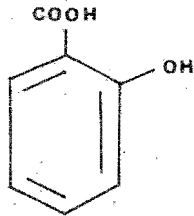
PRINCIPALES COMPUESTOS INHIBIDORES DE  
LA APERTURA ESTOMATAL



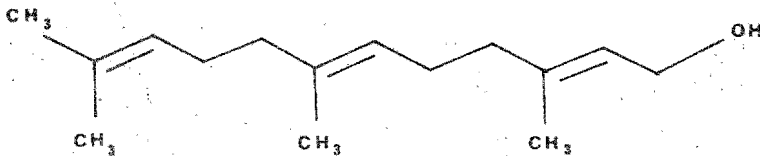
Acetato de Fenil Mercurio (PMA)



Acido Abscisico (ABA  $\pm$ )



Acido Salicilico



Farnesol



### III. MATERIALES Y METODOS

En el desarrollo de este trabajo, se utilizaron plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Cacahuate)\* con una edad que oscilaba entre 14-15 días después de la siembra. Las plántulas eran crecidas en el invernadero en vasos de unicel con 300 g, de suelo bien fertilizado (se sembró una semilla por vaso) y se regaron cada tercer día.

Diez días después de la siembra, se escogían las mejores plántulas en apariencia y eran transferidas a una cámara de crecimiento con las siguientes condiciones ambientales:

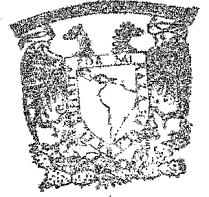
Temperatura de  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$  día y noche, fotoperíodo de 12 horas, se utilizó luz incandescente y luz fluorescente, las cuales proporcionaban una cantidad de energía aproximada de  $145 \mu \text{Em}^2 \text{-s}^{-1}$  y se mantenían con una humedad relativa de 50%.

Una vez que las plántulas tenían de 14-15 días de edad, se cubría el vaso con papel aluminio (para evitar evaporación), se tomaba el peso inicial de cada vaso y se llevaban todos a un mismo peso agregándoles el agua necesaria (aproximadamente a capacidad de campo) (ver fotografía).

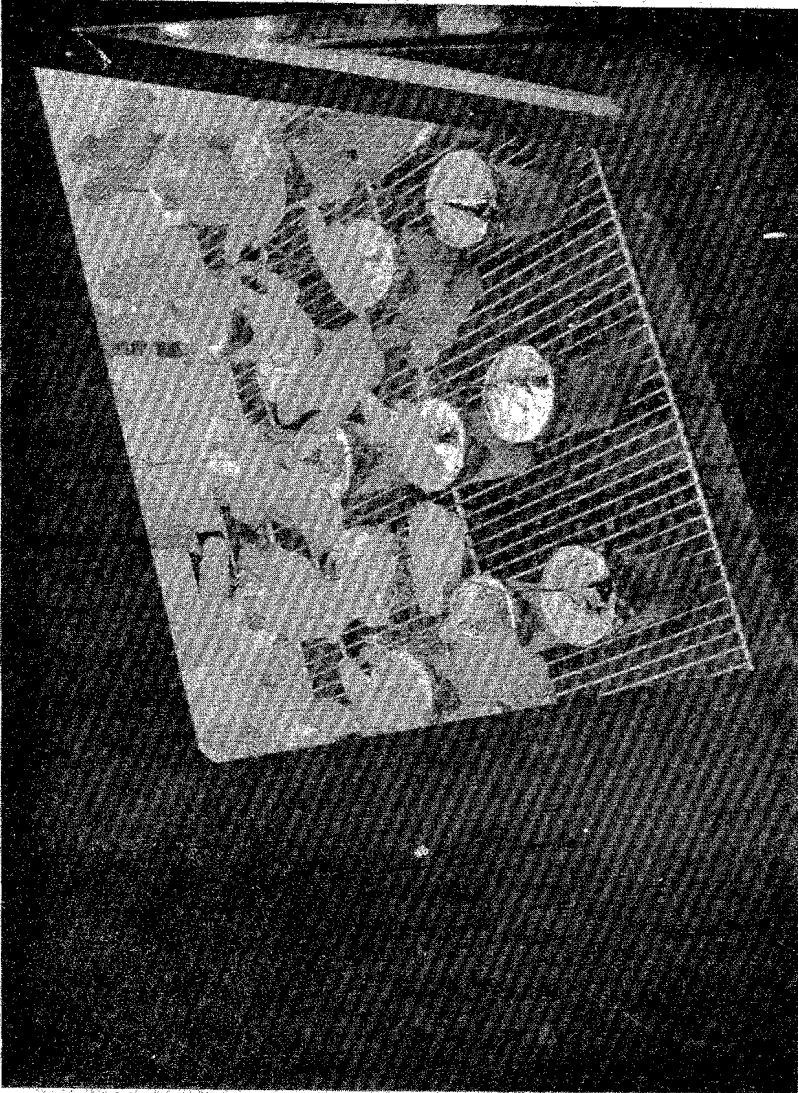
A esta edad se les aplicaron diferentes tratamientos, los cuales se dividieron en tres fases.

---

\* La semilla fue proporcionada por el laboratorio de Fisiología Vegetal del C.P., eligiéndose esta variedad por sus características fenotípicas tan favorables que presenta (tamaño de las hojas, homogeneidad en el crecimiento, etc.).



BIBLIOTECA  
CENTRO DE ECOLOGIA



Fotografía. - Muestra las condiciones y forma en que se llevó a cabo los experimentos.

La primera fase del estudio de transpiración, consistió en aplicar tratamientos de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3} M$ \* conteniendo: glicerol 0.25 ó 0.5 ó 1% ó plyac ó spreader-sticker a una concentración de: (1 ó 2 ó 4)\*\* . El pH inicial de las soluciones fue de 4.5.

En esta fase experimental se determinó la tensión superficial de soluciones que contenían las diferentes concentraciones de sustancias tensoactivas\*\*\* que se utilizaron en los tratamientos, usando el método del tensiómetro de Dunoüy. El anillo de platino fue sumergido en acetona y flameado entre cada determinación.

Todas las lecturas son el valor medio de tres determinaciones que fueron hechas para cada concentración y representan la tensión superficial en dinas  $cm^{-1}$ .

Una vez probadas las concentraciones de humectantes, se determinó cual o cuales ayudaban en la penetración (este criterio se tomó en base a menor pérdida de peso de las plántulas).

En la segunda fase experimental, se tomó como variable los diferentes pH's en un intervalo de 3.5 hasta 7.5, manteniéndose constante la concentración de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  y las concentraciones de humectantes que mejores resultados dieron.

---

\* Trabajos preliminares en estos laboratorios demostraron que esta concentración era la más adecuada para los propósitos del presente trabajo.

\*\* Esta dos sustancias tensoactivas son comerciales y la concentración (1) corresponde a la concentración recomendada por el fabricante para casos normales.

plyac (1) = 0.225 ml/L	spreader-sticker (1) = 0.48 ml/L
plyac (2) = 0.450 ml/L	spreader-sticker (2) = 0.96 ml/L
plyac (4) = 0.9 ml/L	spreader-sticker (4) = 1.92 ml/L

\*\*\* Se va utilizar como sinónimo tensoactivo = humectante.

La tercera y última fase experimental, consistió en probar la concentración de humectantes y el pH en donde se obtuvo una menor reducción de pérdidas de agua, comparándose esta reducción con el efecto producido por ácido abscísico (ABA. Fluka AG, Chemische Fabrik),  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  M que es un antitranspirante natural de las plantas.

Las soluciones de ácido abscísico (J.T. Baker, S.A.) preparadas, fueron en todos los casos disueltas en aguas; el ABA se disolvió primeramente en una pequeña cantidad de dimetil-sulfóxido, aforando el volumen requerido con agua destilada, se preparó una solución de  $10^{-3}$  M y las demás soluciones se prepararon por dilución a partir de éste (dimetil-sulfóxido es generalmente no tóxico a las plantas, Mansfield 1970).

Los pH's de las soluciones se midieron en un pH-metro (modelo HM-5B Tolyo TOA Electronics. Ltd. Japan), ajustándose con hidróxido de potasio (KOH) 1M y ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) diluido según fuera el caso.

#### Aplicación de Tratamientos.

Ya que se tenía el peso inicial de cada vaso como se indicó, las soluciones fueron aplicadas directamente en ambas superficies de las hojas, haciéndose la aplicación con un aspersor manual. Se dejaban las plántulas en la cámara de crecimiento (Warren Kyson Sherer. CEL 38-15 Plant Growth Chamber) y las lecturas de pérdida de agua, fueron tomadas gravimétricamente con una balanza analítica (Sartorius Gm BH. max. 1000 g. d = 0.01 g.), durante dos intervalos de tiempo: 24 y 48 horas después de la aspersión.

La aspersión se realizó en todos los casos a las 17 horas.

Al final de cada experimento se determinó área foliar de las plân

tulas en un integrador (Automatic Area Meter Model AAM-5 KYOKUTO BOEKI-KAISHA, LTD, Japan) y se hacía la relación de: gramos de agua perdida sobre área foliar y se multiplicaba por mil, para obtener una relación de miligramos de agua perdida por  $\text{cm}^2$  de hoja en cada intervalo de tiempo (24 y 48 horas). Esta relación se presenta graficamente en los resultados.

### Tratamientos Aplicados

#### Primera Fase.

- glicerol 0.25% + ac. sal. *	$3 \times 10^{-3} \text{M}$	pH = 4.5
- glicerol 0.25%		pH = 4.5
- glicerol 0.5% + ac. sal.	$3 \times 10^{-3} \text{M}$	pH = 4.5
- glicerol 0.5%		pH = 4.5
- glicerol 1% + ac. sal.	$3 \times 10^{-3} \text{M}$	pH = 4.5
- glicerol 1%		pH = 4.5
- Sin asperjar		
- plyac 1 + ac. sal.	$3 \times 10^{-3} \text{M}$	pH = 4.5
- plyac 1		pH = 4.5
- plyac 2 + ac. sal.	$3 \times 10^{-3} \text{M}$	pH = 4.5
- plyac 2		pH = 4.5
- plyac 4 + ac. sal.	$3 \times 10^{-3} \text{M}$	pH = 4.5
- plyac 4		pH = 4.5
- agua destilada		pH = 4.5

---

\* ac. sal. = A.S.

- spreader-sticker\* 1 + ac. sal.  $3 \times 10^{-3}M$  pH = 4.5
- spreader-sticker 1 pH = 4.5
- spreader-sticker 2 + ac. sal.  $3 \times 10^{-3}M$  pH = 4.5
- spreader-sticker 2 pH = 4.5
- spreader-sticker 4 + ac. sal.  $3 \times 10^{-3}M$  pH = 4.5
- spreader-sticker 4 pH = 4.5
- agua destilada pH = 4.5

Todos los tratamientos tuvieron 5 repeticiones.

Segunda Fase.

- glicerol 0.5% + ac. sal.  $3 \times 10^{-3}M$  pH = 3.5, 4.5, 5.5,  
6.5 y 7.5
- glicerol 0,5% pH = 3.5, 4.5, 5.5,  
6.5 y 7.5
- plyac 2 + ac. sal.  $3 \times 10^{-3}M$  pH = 4.5, 5.5, 6.5 y  
7.5
- plyac 2 pH = 4.5, 5.5, 6.5 y  
7.5

Unicamente el tratamiento de agua destilada se mantuvo siempre a un pH constante de 6.0.

Por falta de espacio en la cámara los experimentos se dividieron en dos partes, primero se hacía un experimento como pH's 3.5, 4.5 y - 5.5 y en un segundo experimento se hacían los pH's de 6.5 y 7.5

Se tuvieron 5 repeticiones para los tratamientos de glicerol y 7 repeticiones para los tratamientos de plyac.

---

\* spreader-sticker = S-sticker.



BIBLIOTECA  
CENTRO DE ECOLOGIA

Tercera Fase.

- glicerol 0.5% + ac. sal. $3 \times 10^{-3}M$	pH = 5.5
- glicerol 0.5% + ABA $10^{-4}M$	pH = 5.5
- glicerol 0.5% + ABA $10^{-5}M$	pH = 5.5
- glicerol 0.5% + ABA $10^{-6}M$	pH = 5.5
- glicerol 0.5% + ABA $10^{-7}M$	pH = 5.5
- glicerol 0.5%	pH = 5.5
- agua destilada	pH = 5.5

En todos los casos se tuvieron 5 repeticiones para cada tratamiento.

Los tratamientos se distribuyeron completamente al azar dentro de la cámara en las tres fases y los resultados presentados representan la media del número de repeticiones utilizadas en cada tratamiento.

Análisis Estadístico

Para todos los experimentos se determinó la varianza  $S^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}$  y el error estandar  $EE = \frac{S}{\sqrt{n}}$

Se hizo un análisis de varianza y las medias de los tratamientos fueron comparadas mediante la prueba (T) de comparación de medias y la prueba múltiple de Duncan para las primeras 24 horas del experimento.

#### IV. RESULTADOS

Los resultados que se muestran, corresponden a las tres fases experimentales en que fue desarrollada la investigación. Estos resultados se reportan en forma de histograma, para cada intervalo de tiempo en que fue medida la pérdida de agua (24 y 48 horas después de la aspersión); cada barra del histograma corresponde a los miligramos de agua perdida por  $\text{cm}^2$  de hoja de cada tratamiento.

El error estandar de las medias es presentado en las gráficas.

##### Primera Fase.

Efecto de ácido salicílico sobre transpiración con diferentes concentraciones de sustancias tensoactivas: glicero, plyac ó spreader-sticker.

En el cuadro (1), se muestra el efecto de las diferentes sustancias tensoactivas, sobre la tensión superficial. Se puede observar un abatimiento en más de un 35% de la tensión superficial, en las soluciones que contenían las dos sustancias comerciales usadas: plyac y spreader-sticker; comparadas con la tensión superficial de la solución que contenía glicerol, que resultó ser alta y muy parecida a la del agua pura que es de  $75 \text{ dinas cm}^{-1}$  aproximadamente.

Para las tres concentraciones usadas de humectantes, no se observó ninguna diferencia aparente, siendo la tensión superficial casi igual.

Las determinaciones de la tensión superficial de las soluciones, fueron tomadas a una temperatura constante de  $20^{\circ}\text{C}$ . Cada resultado representó el promedio de tres repeticiones.



Cuadro 1.

Substancia humectante	Concentración	Tensión Superficial dinas $\text{cm}^{-1}$
glicerol	0.25%	73.2
	0.5%	73.8
	1%	72.7
plyac	1	45.2
	2	42.4
	4	42.5
spreader-sticker	1	37.9
	2	37.0
	4	36.7

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M sobre transpiración de frijol con: glicerol 0.25, 0.5 ó 1% pH 4.5. (Figura 2).

En este experimento, se observó una menor pérdida de agua, en el tratamiento de ácido salicílico que contenía 0.5% de glicerol. La reducción de pérdida de agua, correspondió aproximadamente a un 17% y 9% menos de agua perdida que sus testigos de glicerol y sin asperjar respectivamente para las primeras 24 horas y para el segundo intervalo de tiempo de 48 horas, la reducción de pérdida de agua se mantuvo con un porcentaje de 12% y 6% menos que sus testigos de glicerol y sin asperjar respectivamente.

En los demás tratamientos aplicados que contenían glicerol al -

0.25 y 1%, no se observaron diferencias significativas y su comportamiento fue muy similar al comportamiento de sus testigos correspondientes.

Cada tratamiento tuvo 5 repeticiones; el análisis de varianza reveló una alta significancia con una  $P > 0.002$  para las primeras 24 horas.

La prueba (T) de comparación de medias, encontró únicamente el tratamiento de ácido salicílico + glicerol 0.5% significativamente diferente de sus dos testigos correspondientes. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tratamientos comparados	Media	Valor de (T)	Nivel de significancia
glicerol 0.25% vs. ac. sal. + gli. 0,25%	156.99 148,04	$T_c = 2.01$ $T_t = 1.86$	10%
glicerol 0.5% vs. ac. sal. + gli. 0.5%	159.13 131.16	$T_c = 5.14$ $T_t = 4.60$	1%
glicerol 1% vs. ac. sal. + gli. 1%	148,18 142,42	$T_c = 0.73$ $T_t = 4.60$	NS
sin asperjar vs. ac. sal. + gli. 0.25%	143.35 156.99	$T_c = 2$ $T_t = 3.35$	NS
sin asperjar vs. ac. sal. + gli. 0.5%	143.35 131.16	$T_c = 4.56$ $T_t = 2.77$	5%
sin asperjar vs. ac. sal. + gli. 1%	143.35 142,42	$T_c = 0.18$ $T_t = 1.86$	NS





$T_c = (T)$  calculada




NS = no significativa

$T_t = (T)$  de tablas

1, 5 y 10% = probabilidad de error

TRATAMIENTOS

- a) glicerol 0.25 %  A.S.+ glicerol 0.25 % 
- b) glicerol 0.5 %  A.S. + glicerol 0.5 % 

- c) glicerol 1%  A.S.+ glicerol 1% 
- d) sin asperjar 

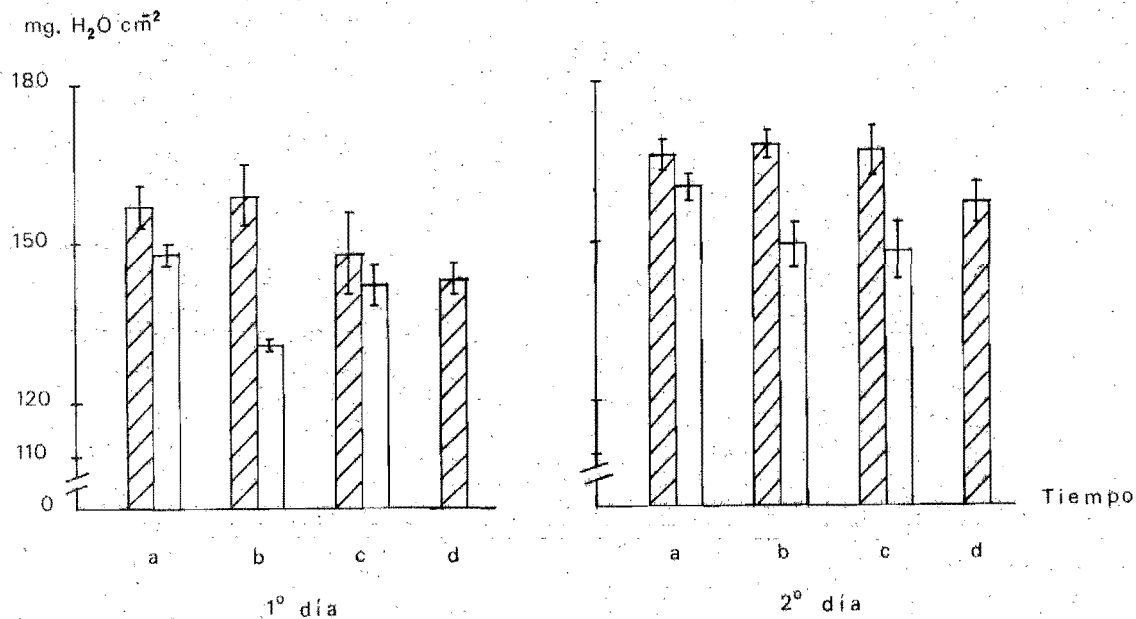


Fig. 2. Efecto de ac. salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M sobre transpiración de frijol con: glicerol 0.25, 0.5 y 1% pH 4.5. Cada punto es la media de 5 repeticiones  $\pm$  el error estándar.

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M sobre transpiración de frijol con plyac 1, 2 ó 4 pH 4.5. (Figura 3).

Se obtuvo en este experimento, una reducción de la transpiración en los tratamientos de ácido salicílico que contenían al humectante (1, 2 ó 4 de plyac), reduciendo la pérdida de agua aproximadamente en un 13% de sus testigos de plyac y de agua destilada en las primeras 24 horas. Sin embargo a las 48 horas, esta diferencia en pérdida de agua había desaparecido, comportándose la transpiración de todos los tratamientos - muy similar.

Se tuvieron 5 repeticiones en cada tratamiento y el análisis de varianza resultó altamente significativo con una  $P > 0.001$ .

La prueba (T) de comparación de medias, encontró a los tratamientos de ácido salicílico + plyac 1, 2 ó 4 significativamente diferentes de sus testigos correspondientes. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M sobre transpiración de frijol con: spreader-sticker 1, 2 ó 4 pH 4.5. (Figura 4).

En este experimento se presentó una reducción de transpiración de 15% en las primeras 24 horas en los tratamientos de spreader-sticker y de ácido salicílico + spreader-sticker, comparados con el tratamiento de agua destilada; pero no hubo diferencia alguna entre los tratamientos de ácido salicílico + spreader-sticker y sus testigos de spreader-sticker, comparándose la pérdida de agua exactamente igual.

En el segundo intervalo de 48 horas, las diferencias que se habían presentado desaparecieron, comportándose todos los tratamientos de la misma forma en la pérdida de agua.

Tratamientos comparados	Media	Valor de (T)	Nivel de Significancia
plyac 1	122.65	$T_c = 3.16$	
vs.			5%
ac. sal. + plyac 1	108.70	$T_t = 2.30$	
plyac 2	126.82	$T_c = 3.91$	
vs.			1%
ac. sal. + plyac 2.	111.23	$T_t = 3.35$	
plyac 4	120.63	$T_c = 3.41$	
vs.			1%
ac. sal. + plyac 4	110.12	$T_t = 3.35$	
agua destilada	131.88	$T_c = 2.55$	
vs.			5%
ac. sal. + plyac 1	108.70	$T_t = 2.30$	
agua destilada	131.88	$T_c = 2.36$	
vs.			5%
ac. sal. + plyac 2	111.23	$T_t = 2.30$	
agua destilada	131.88	$T_c = 2.50$	
vs.			10%
ac. sal. + plyac 4.	110.12	$T_c = 2.13$	

En esta primera fase reseñada se encontró que, concentraciones de glicerol 0.5% y de plyac 2, adicionados al ácido salicílico reducían la pérdida de agua entre 12 y 15% y presentaron alta significancia con sus testigos correspondientes, por lo cual estas dos concentraciones de humectantes, se van a mantener constantes junto con la concentración de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  en los demás experimentos.

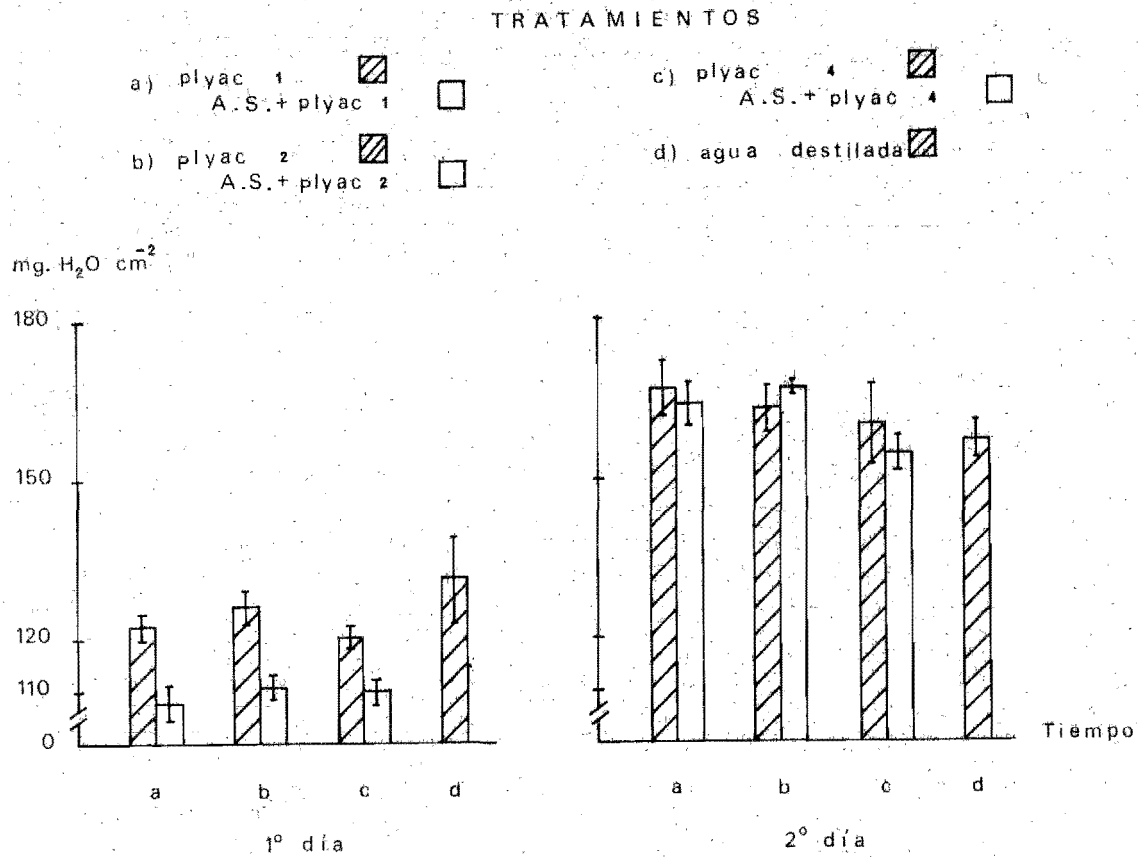


Fig. 3. Efecto de ac. salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  sobre transpiración de frijol con: plyac 1, 2 y 4 pH. 4.5 . Cada punto es la media de 5 repeticiones  $\pm$  el error estandar.

TRATAMIENTOS

- a) S-sticker 1  A.S + S-sticker 1 
- b) S-sticker 2  A.S + S-sticker 2 
- c) S-sticker 4  A.S. + S-sticker 4 
- d) agua destilada 

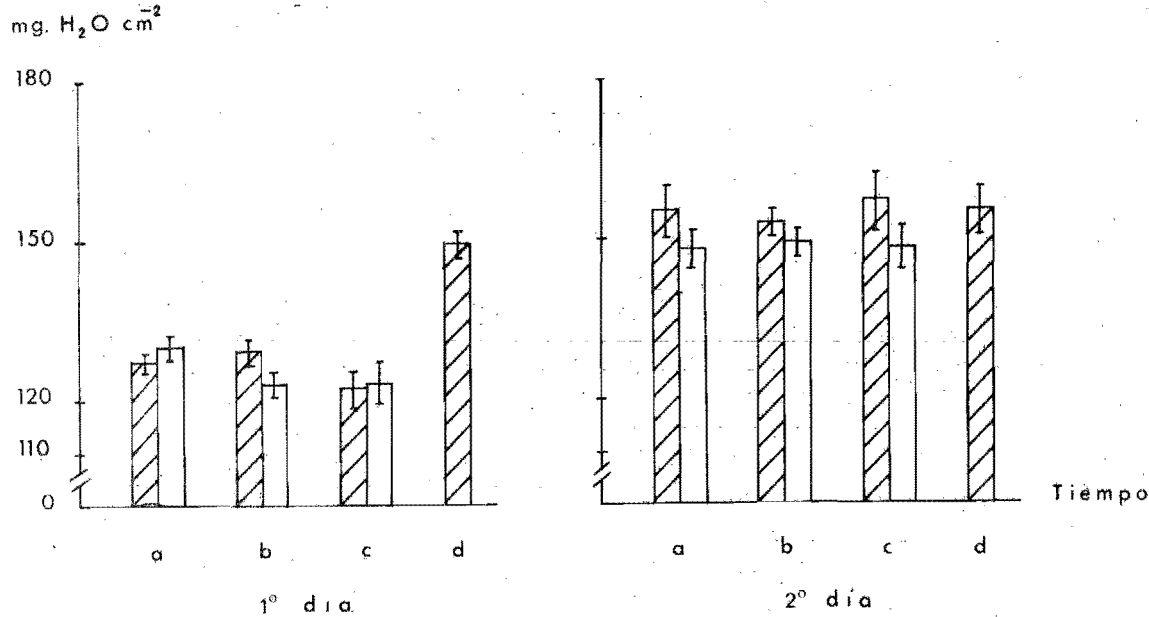


Fig. 4. Efecto de ac. salicílico  $3 \times 10^{-3} \text{M}$  sobre transpiración de frijol con: S-sticker 1, 2 y 4. pH 4.5. Cada punto es la media de 5 repeticiones  $\pm$  el error estándar.

Segunda Fase.

Efecto del pH sobre transpiración de frijol, de soluciones que contienen ácido salicílico + glicerol 0.5% ó plyac 2.

Las soluciones fueron aplicadas a diferentes pH's (3.5, 4.5, 5.5, 6.5 y 7.5) en esta fase experimental y se observó un marcado cambio en el comportamiento de pérdida de agua.

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M + glicerol 0.5% sobre transpiración de frijol a diferentes pH's. (Figura 5 y 5').

El tratamiento que se aplicó a pH 3.5 de ácido salicílico más glicerol, redujo la pérdida de agua, 36 y 43 mg. de agua  $\text{cm}^{-2}$  de hoja - en comparación con sus testigos de glicerol y de agua destilada respectivamente (ver tabla Ib y Ib' del apéndice); sin embargo las plántulas mostraron efectos tóxicos, presentando quemaduras en más de un 50% de sus hojas. En los demás tratamientos con pH's de 4.5, 5.5, 6.5 y 7.5, se observó un gradiente de menor pérdida de agua, favorable a los pH's menos ácidos. La tabla (2), muestra el efecto en por ciento de pérdida de agua de los tratamientos de ácido salicílico, con respecto a sus testigos de glicerol y de agua destilada, para los dos intervalos de tiempo en que fue medida la pérdida de agua.

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M + plyac 2 sobre transpiración de frijol a diferentes pH's. (Figura 6 y 6').

En este experimento se eliminó el tratamiento de pH 3.5 por causar fitotoxicidad a las plántulas.

Se obtuvo un gradiente de menor pérdida de agua a pH's de 6.5 y



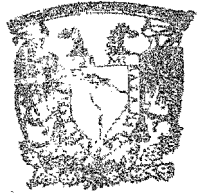


Tabla 2.

BIBLIOTECA  
CENTRO DE ECOLOGIA

Tratamiento	Testigo de: glicerol 0.5% = 100%		Testigo de: agua destilada 100%	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
ac. sal. $3 \times 10^{-3}$ M + glicerol 0.5% pH 3.5	75%	81%	72%	82%
ac. sal. $3 \times 10^{-3}$ M + glicerol 0.5% pH 4.5	91%	86%	93%	90%
ac. sal. $3 \times 10^{-3}$ M + glicerol 0.5% pH 5.5	84%	86%	89%	89%
ac. sal. $3 \times 10^{-3}$ M + glicerol 0.5 pH 6.5	87%	85%	86%	87%
ac. sal. $3 \times 10^{-3}$ M + glicerol 0.5% pH 7.5	89%	90%	90%	89%

7.5; sin embargo el efecto se vió disminuído para las 48 horas a todos los pH's probados.

En general para los cuatro pH's probados, se obtuvo en promedio una reducci3n en la p3rdida de agua de 9% de sus correspondientes testigos, para las primeras 24 horas y de un 10% a las 48 horas.

La tabla (3) muestra la p3rdida de agua expresada en porciento, de los tratamientos de 3cido salic3lico aplicados, comparados con los de sus testigos correspondientes.

## TRATAMIENTOS

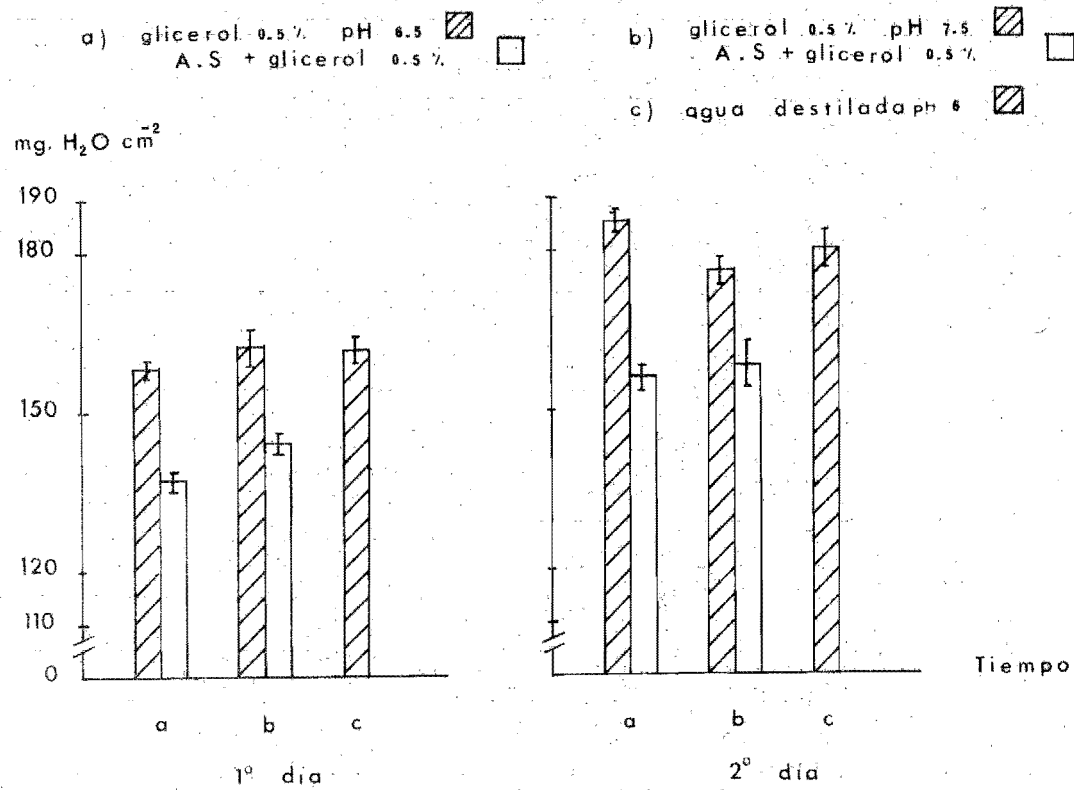


Fig. 5. Efecto de ac. salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  + glicerol 0.5% sobre transpiración de frijol a diferentes pH's. Cada punto es la media de 7 repeticiones  $\pm$  el error estandar.

Tabla 3

Tratamientos	Testigo de: plyac 2 = 100%		Testigo de: agua destilada = 100%	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
ac. sal. $3 \times 10^{-3} M$ + plyac 2 pH 4.5	93%	95%	89%	95%
ac. sal. $3 \times 10^{-3} M$ + plyac 2 pH 5.5	89%	95%	93%	90%
ac. sal. $3 \times 10^{-3} M$ + plyac 2 pH 6.5.	90%	91%	94%	84%
ac. sal. $3 \times 10^{-3} M$ + plyac 2 pH 7.5	90%	87%	89%	84%

Tercera Fase.

Efecto de ácido salicílico y ácido abscísico (ABA) sobre transpiración de frijol.

Este experimento se llevó a cabo, en las mismas condiciones ambientales que todos los anteriores.

Las soluciones de ácido salicílico y ABA, contenían 0.5% de glicerol y un pH constante de 5.5. Se utilizó un diseño completamente al azar con 7 tratamientos y 5 repeticiones.

En la (Figura 7) se muestra la pérdida de agua, en mg. de agua  $cm^{-2}$  de hoja para los dos intervalos de tiempo en que fue medida. Los experimentos de las primeras 24 horas, muestran que ABA  $10^{-4}$ ,  $10^{-5} M$  y ácido salicílico, reducen la pérdida de agua de plántulas de frijol en:

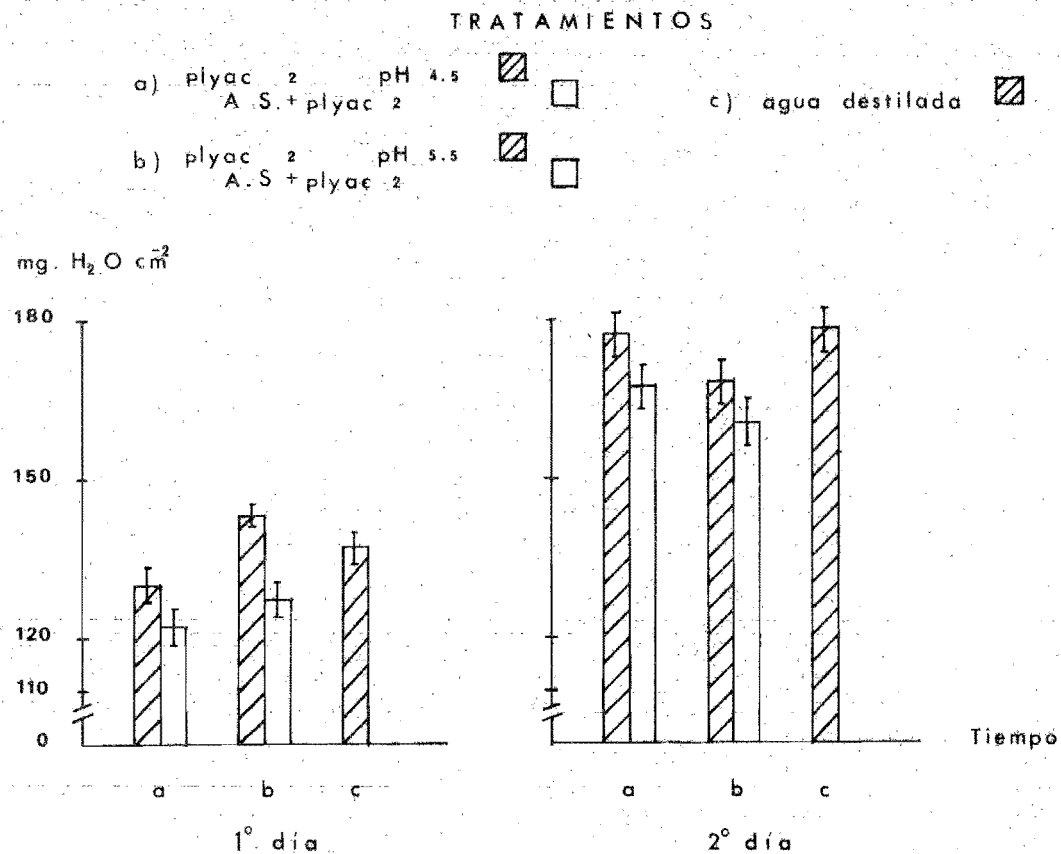


Fig. 6. Efecto de  $\text{ac. salicílico } 3 \times 10^{-3} \text{ M} + \text{plyac } 2$  sobre transpiración de frijol a diferentes pH's. Cada punto es la media de 7 repeticiones  $\pm$  el error estándar.

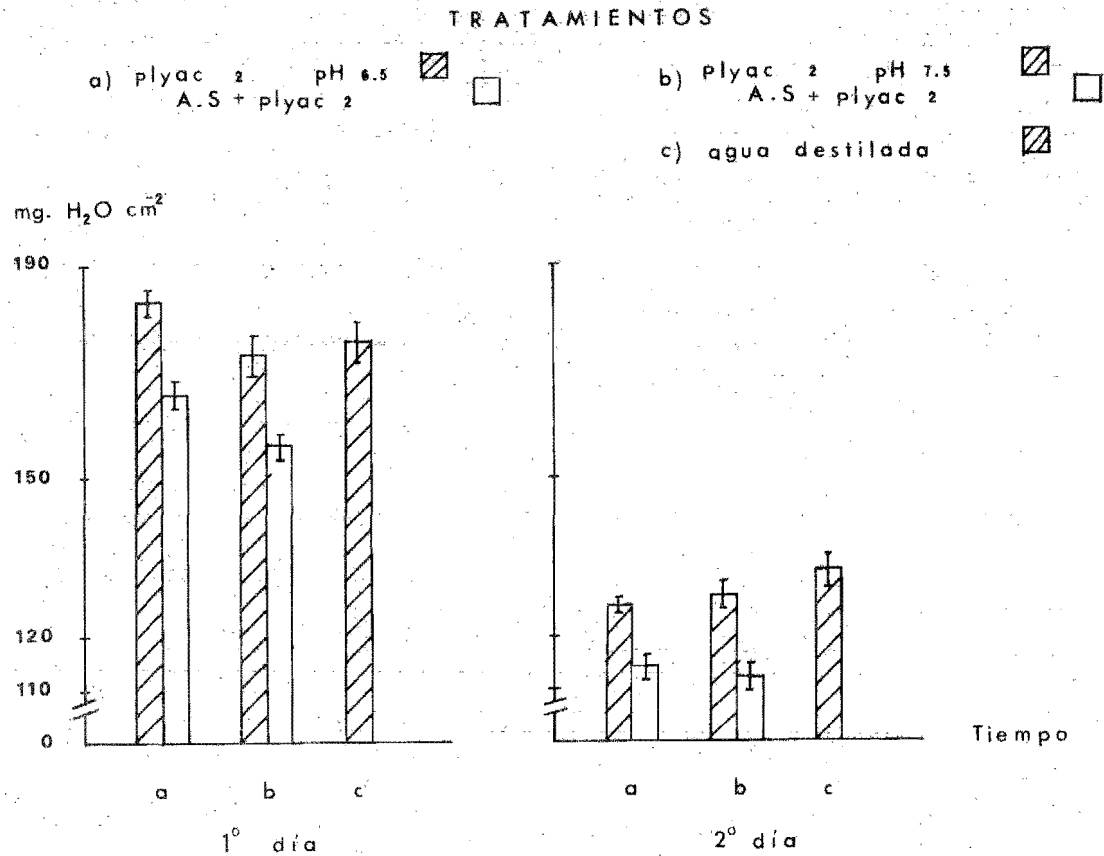


Fig. 6. Efecto de  $\text{ac. salicílico } 3 \times 10^{-3} + \text{plyac } 2$  sobre transpiración de frijol a diferentes pH's. Cada punto es la media de 7 repeticiones  $\pm$  el error estandar.

63, 22.5 y 26.8 mg. de agua  $\text{cm}^{-2}$  respectivamente, comparados con sus testigos (ver tabla Ic del apéndice). La pérdida de agua durante el tiempo fue menor y los resultados a las 48 horas muestran menor la reducción de pérdida de agua, en los tratamientos de ABA  $10^{-4}$  y ácido salicílico. En el tratamiento de ABA  $10^{-5}$  M el efecto se había perdido.

En general para las primeras 24 horas de experimento, el ácido salicílico redujo la pérdida de agua en aproximadamente 15% mientras que ABA  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  M, redujeron 34% y 12% respectivamente.

En la (Figura 8) se muestra la curva en porciento, de agua perdida por transpiración de las plántulas que fueron tratadas con ABA  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  M a las 24 horas de tratamiento. Extrapolando la reducción causada por la concentración de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M, sobre la curva de ABA, se puede leer que corresponde a una concentración de ABA igual a  $1.5 \times 10^{-5}$  M.

El análisis de varianza fue llevado a cabo en los resultados, encontrándose una significancia de  $p > 0.0001$ .

La prueba múltiple de Duncan, agrupó la media de los tratamientos de la siguiente manera.

*Significancia	Media	Tratamiento
A	190.87	ABA $10^{-7}$ M + glicerol 0.5%
A	188.01	agua + glicerol 0.5%
A	184.90	ABA $10^{-6}$ M + glicerol 0.5%
A	183.12	agua destilada
B	165.46	ABA $10^{-5}$ + glicerol 0.5%
B	161.20	ac. sal. $3 \times 10^{-3}$ M + glicerol 0.5%
C	124.17	ABA $10^{-4}$ M + glicerol 0.5%

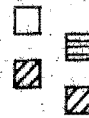
\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

TRATAMIENTOS

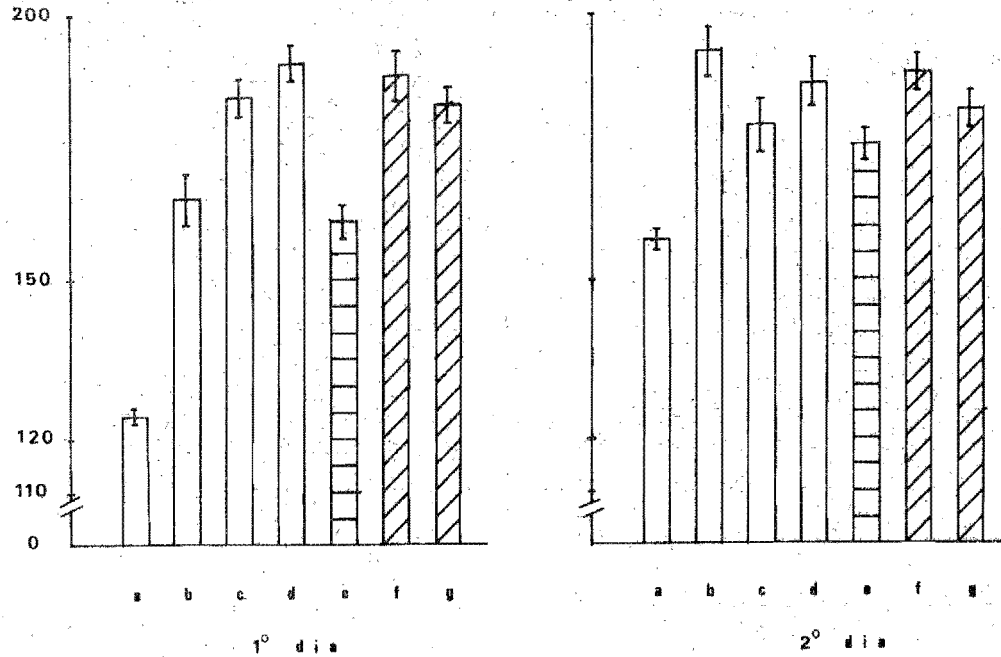
- a) ABA  $10^{-4}$  + glicerol 0.5 %  
 b) ABA  $10^{-5}$  + " "  
 c) ABA  $10^{-6}$  + " "



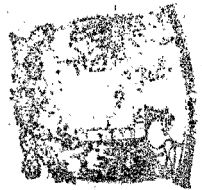
- d) ABA  $10^{-7}$  + glicerol 0.5 %  
 e) A.S. + " "  
 f) agua destilada + " "  
 g) agua destilada



mg. H<sub>2</sub>O cm<sup>-2</sup>



BIBLIOTECA  
 CENTRO DE ECOLOGIA



Tiempo

fig. 7. Efecto de ac. salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M y ac. abscisico (ABA)  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  M + glicerol 0.5 % sobre transpiración de frijol pM 5.5. Cada punto es la media de 5 repeticiones  $\pm$  el error estándar.

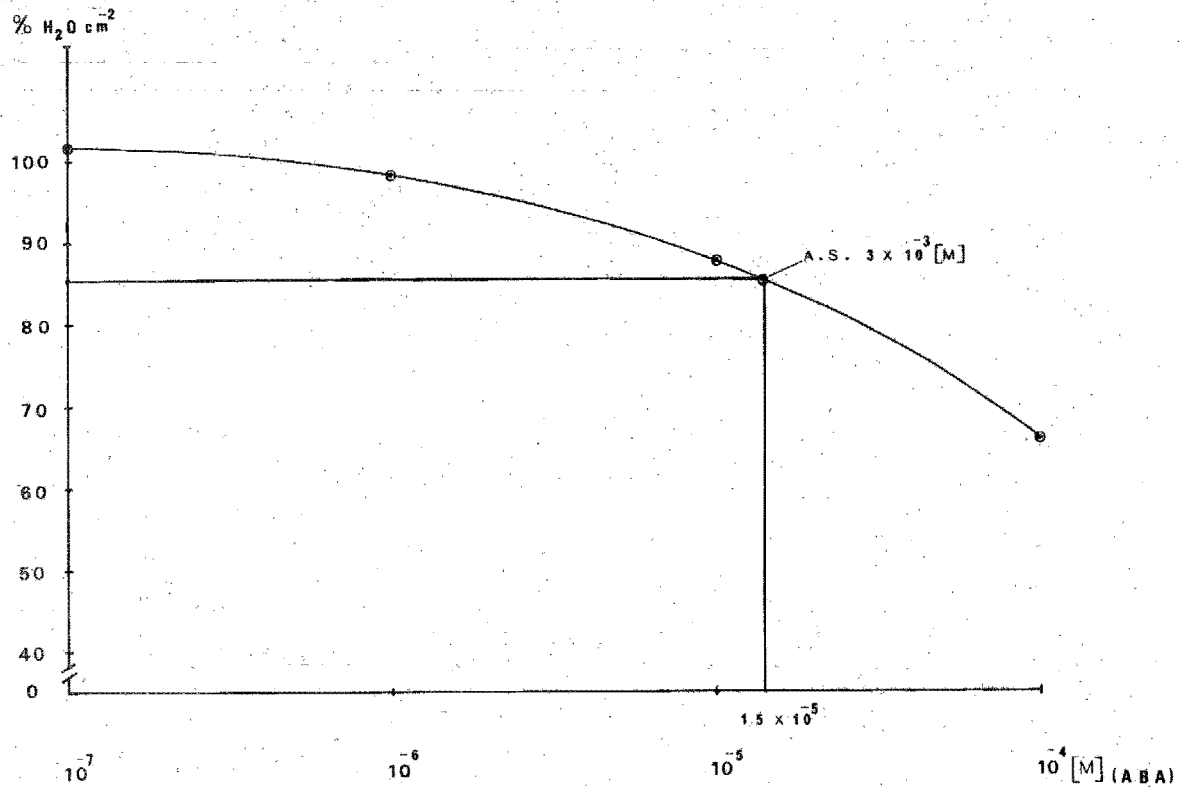


fig. 8. Efecto de ac. salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M + glicerol 0.5% sobre transpiración de frijol comparado con el efecto producido por ac. abscísico (ABA)  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  M. en porcentaje de agua perdida  $\text{cm}^{-2}$ .



## V. DISCUSION

En la primera fase de este trabajo, se encontró que soluciones de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  más glicerol 0.5% redujeron la transpiración en un 17% y 9% para las primeras 24 horas en relación con sus testigos de glicerol y sin asperjar respectivamente; este efecto se mantuvo para las 48 horas de tratamiento con un 12% y 6% respectivamente de sus testigos correspondientes.

Soluciones de ácido salicílico que contenían plyac 2 redujeron la transpiración en 12% y 15% de sus testigos de plyac y de agua destilada respectivamente, en las primeras 24 horas. Para las 48 horas, el efecto se pierde, comportándose la pérdida de agua igual en todos los tratamientos.

Para los tratamientos de ácido salicílico más spreader-sticker y soluciones que contenían únicamente spreader-sticker no se encontró diferencia ya que redujeron ambos la transpiración en un 15% con respecto al control de agua destilada.

Este efecto de reducción por spreader-sticker posiblemente se debe a algún efecto tóxico en la planta, afectando de esta forma la transpiración, aunque aparentemente no se vió ninguna toxicidad. Otra posibilidad es que este compuesto sea en sí mismo un antitranspirante como se ha demostrado para herbicidas, fungicidas, etc., que se sabe afectan la transpiración.

En esta primera fase de experimentación se manifestó el efecto del ácido salicílico reduciendo la transpiración. La adición de diferentes concentraciones de humectantes con la finalidad de ayudar en la pe-

netración de las soluciones a través de las hojas, dieron resultados - contrarios a lo esperado por nosotros y a lo reportado por la literatura.

La adición de compuestos tensoactivos que disminuyen la tensión superficial de las soluciones, promoviendo un humedecimiento mayor de la superficie de la hoja y de esta forma facilitar la penetración, ha sido ampliamente estudiado, estableciendo que soluciones con una menor tensión superficial, penetran más fácilmente que soluciones con una tensión superficial mayor (Dybing y Currir 1960, Schönherr y Bukovac 1972, Greene y Bukovac 1974).

En nuestros resultados las soluciones de ácido salicílico más glicerol 0.5% y ácido salicílico más plyac 2 presentaron la mayor tensión superficial (ver cuadro # 1) y fue donde se obtuvo reducción en la transpiración; sin embargo se encuentra reportado en la literatura, que el glicerol es un promotor de la penetración foliar (Gray 1955, Andus 1976).

Los autores piensan que probablemente este incremento en la penetración debido al glicerol, se debe a la baja volatilidad de éste, permitiendo que la solución permanezca durante un largo tiempo sobre la superficie de la hoja o que posiblemente el glicerol aumenta la permeabilidad de la hoja. Esta sugerencia hecha por los autores es una posible explicación a nuestros resultados encontrados, es decir la facilitación de una mayor penetración.

En una segunda fase experimental, se probó el efecto del ácido salicílico más glicerol 0.5% y plyac 2 con diferentes pH's, a saber: 3.5, 4.5, 5.5, 6.5 y 7.5. Los resultados mostraron que en pH 3.5 se encuentran efectos tóxicos, provocando quemaduras en la superficie de las

hojas; en los demás pH's se encontró que el efecto de pérdida de agua - se ve favorecido en pH's menos ácidos, encontrándose un óptimo en pH - 5.5; el mismo comportamiento de pérdida de agua se encontró en los dos experimentos, en el primer día de tratamiento, aunque el efecto de pérdida de agua en los tratamientos de plyac es menor que en los tratamientos de glicerol. En el segundo día de tratamiento, se sigue encontrando un efecto en la reducción de pérdida de agua, sin embargo ya no sigue el mismo comportamiento del primer día y ahora se encuentra un óptimo - en pH's de 6.5 y 7.5 (ver figura 9).

El efecto del pH sobre la penetración foliar de compuestos ha sido ampliamente estudiado, encontrándose que el pH afecta la facilidad de la penetración cuticular, ya que influye sobre la polaridad de la cutícula y del penetrante, la acidez reprime la ionización de las moléculas, encontrándose que moléculas sin disociar, penetran más fácilmente y las cuales se fraccionan con mayor facilidad en fase lipofílicas (Norris y Bukovac 1972, Robertson y Kirkwood 1969 y Audus 1976).

No obstante todos los trabajos que se han llevado a cabo para dilucidar la penetración foliar, sigue siendo un problema sin resolver y mientras en unos sistemas funciona una teoría, en otros sistemas funcionan otra teoría. Esto hace suponer que, para cada sistema empleado, - empezando por el tipo de planta y el bioensayo usado, los factores que intervienen en la penetración, son específicos: cuando en unos funciona la baja tensión superficial de las soluciones, en otros funciona la penetración a través de los estomas o bien el pH, es la función determinante. Lo que se podría esperar de la penetración foliar y probablemente para este trabajo, es que todos los factores que determinan la penetración, pueden estar jugando un papel determinante aunque unos en mayor grado que otros.

TRATAMIENTOS

A. S. + glicerol 0.5 %

— 1º día  
- - - 2º día

A. S. + p lyac 2

— 1º día  
- - - 2º día

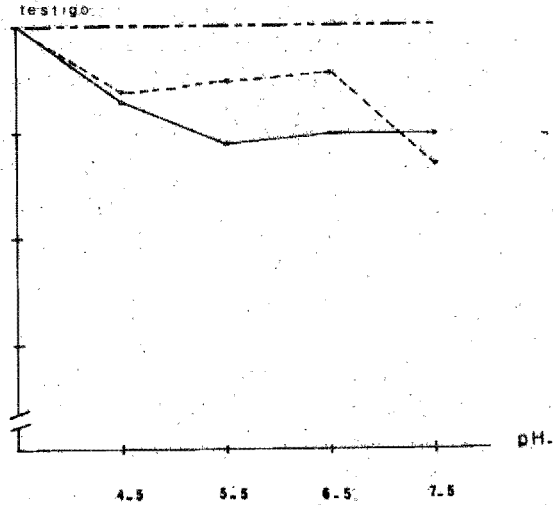
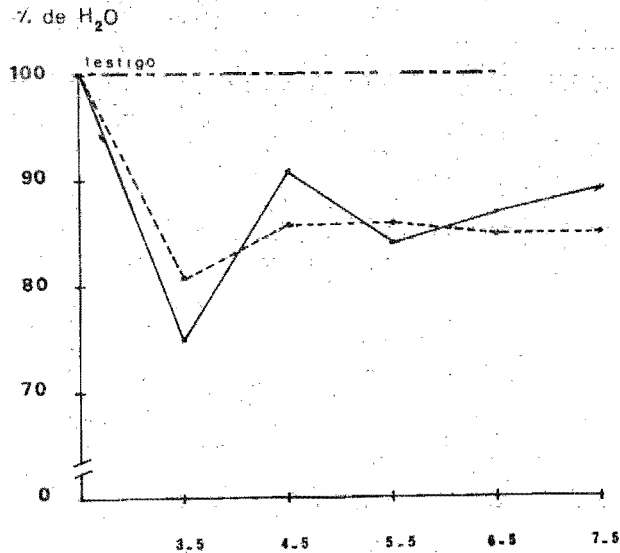


figura 9. Efecto de ac. salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  + glicerol 0.5% ó p lyac 2 con diferentes pH's sobre transpiración de plántulas de frijol, en porciento de agua perdida. Cada punto es la media de 6 repeticiones.

El estudio de los salicilatos en la transpiración se ha venido haciendo en años recientes a partir de 1975, por Larqué-Saavedra. Los trabajos que se han llevado a cabo principalmente con ácido acetil salicílico (ASA), el cual suministrado a través del peciolo de explantes de frijol a una concentración de  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  M reduce la transpiración, hasta en un 43%. Utilizando el método de epidermis desprendidas de *C. communis*, incubadas en soluciones de ASA a una concentración de  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  M se obtiene un cierre total de los estomas y en concentración de  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$  M se obtiene una reducción en la apertura estomatal en un 50% respecto al control. En estos trabajos se estableció que una concentración de ABA  $10^{-4}$  M es equivalente a una concentración de ASA entre  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$  M (Larqué-Saavedra 1978, 1979).

En una tercera fase de nuestro trabajo, se comparó el efecto del ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M más glicerol 0.5% con ABA, en un rango de  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  M encontrándose que el efecto de esta concentración de ácido salicílico es equivalente a una concentración de ABA igual a  $1.5 \times 10^{-5}$  M para el primer día de tratamiento (ver figura 8).

El mecanismo por el cual el ácido salicílico o algún salicilato que pudiera ser metabolizado por la planta y que esté afectando la transpiración, es difícil de establecer. Se podría suponer que el ácido salicílico por su efecto en la transpiración, tenga un mecanismo igual al encontrado para el ABA, el cual está interviniendo directamente en el balance iónico del complejo estomatal (Itai *et al.* 1978), o posiblemente esté actuando el efecto que sugiere Larqué-Saavedra, (1978), en donde propone que el ASA está afectando los niveles de  $CO_2$  dentro de la hoja e induce el cierre de los estomas.

Sin embargo más trabajos sobre el mismo tema deben ser llevados a cabo, para dejar bien establecido el papel de los salicilatos en la transpiración, estableciendo numerosos bioensayos que evalúen el mismo efecto y que den las evidencias necesarias para poder establecer claramente sus efectos.

Establecer un bioensayo dentro de un trabajo de investigación tal vez sea la tarea más difícil. A través de una serie de pruebas preliminares, en este trabajo, se dejó bien establecido nuestro bioensayo, con una baja variación entre las unidades experimentales y lo más importante una alta reproducibilidad del experimento.

VI. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Aguilera, C.M. y Elizondo, R.M. 1980. Relaciones agua-suelo-planta-atmósfera. Depto. de Irrigación. U.A.CH. Chapingo, México. - 321 pp.
- 2.- Allaway, W.G. 1973. Accumulation of malate in guard cells of *Vicia faba*. during stomatal opening. *Planta*. 110: 63-70.
- 3.- Audus, J.L. 1976. *Herbicides. Physiology, Biochemistry, Ecology*. 2nd. Edition. Vol. I. Academic Press. Chapter 11.
- 4.- Barker, L.J. y Levitan, H. 1971. Salicylates: Effect on membrane permeability of Molluscan Neurons. *Science*. 172: 1245-1247.
- 5.- Cleland, C.F. y Ajami, A. 1974. Identification of the flowerinducing factor isolated from aphid honeydew as being salicylic acid. *Plant. Physiol.* 54: 904-906.
- 6.- Cutter, G.E. 1969. *Plant Anatomy. Experiment and interpretation*. Addison-Wesley Publishing Company. 1a. Ed. Cap. 7.
- 7.- Davenport, D.C., Hagan, R.M. y Martin, P.E. 1969. Antitranspirants ... uses and effects on plant life. *California Agricultura*. 23: 14-16.
- 8.- Davenport, D.C., Uriu, K. y Hagan, R.M. 1974. Effects of film anti-transpirants on growth. *J. Exp. Bot.* 25: 410-419.
- 9.- Davies, W.J., Mansfield, T.A. y Orton, P.J. 1978. Strategies employed by plant to conserve water: Can we improve on them?. *Proceeding Joint. BCPC. and BPGRG. Symposium. "Opportunities for Chemical Plant Growth Regulation"*. 45-54.

- 10.- Davies, W.J. 1980. Curso: "El agua en las plantas". Julio-1980. C.P. Chapingo, México.
- 11.- De León, G.F. 1979. Efecto de ácido acetil salicílico sobre algunos aspectos de la fisiología estomatal de *Commelina communis* L. Tesis de Maestría en Ciencias. C.P. Chapingo, México.
- 12.- De León, G.F. y Larqué-Saavedra, A. 1979. Cierre estomatal inducido por aspirina y su dependencia del pH. *Agrociencia*. 37: 67-75.
- 13.- Dybing, C.D. y Currier, H.B. 1961. Foliar penetration by chemicals. *Plant. Physiol.* 36: 169-174.
- 14.- Eddings, J.L. y Brown, A.L. 1967. Absortion and translocation of foliar-applied Iron. *Plant. Physiol.* 42: 15-19.
- 15.- Fischer, R.A. 1968. Stomatal Opening: Role of potassium uptake by guard cell. *Science*. 160: 784-785.
- 16.- Focus. 1965. Enciclopedia Internacional. Ed. Argos, S.A. Barcelona. 4: 6740-6741.
- 17.- Gray, R.A. 1955. Increasing the absortion of Streptomycin by leaves and flowers with Glycerol. *Phytopathology*. 46: 105-111.
- 18.- Greene, D.W. y Bukovac, M.J. 1974. Stomatal penetration effect of surfactants and role in foliar absortion. *Amer. J. Bot.* 61: 100-106.
- 19.- Greulach, A.V. 1973. Plant function and structure. Mac. Millan Publishing Co. Inc. New York. 224-265.



- 20.- Heath, O.V.S. 1949. Studies in stomatal behaviour. II. The role of starch in the light response of stomata. Part. I. Review of literature, and experiments on the relation between aperture and starch content in the stomata of *Pelargonium zonale*. New. Phytol. 48: 186-209.
- 21.- Herbert, M.H. 1970. Leaf structure as related to absorption of pesticides and other compounds. (Residue Review) vol. 31. Springer-Verlang New York. Heidelberg. Berlin. 127 pp.
- 22.- Hiron, R.W.P. y Wright, S.T.C. 1973. The role of endogenous Abscisic Acid in the response of plants to stress. J. Exp. Bot. 24: 769-781.
- 23.- Humble, G.D. y Raschke, K. 1971. Stomatal opening quantitatively related to potassium transport. Plant. Physiol. 48: 447-453.
- 24.- Impens, I.I., Stewart, D.W., Allen, L.H. y Lemon, E.R. 1967. Diffusive resistances at, and transpiration rates from leaves in situ within the vegetative canopy of a corn crop. Plant. Physiol. 42: 99-104.
- 25.- Itai, C., Weyerrs, J.D.B., Hillman, J.R., Meidner, H. y Willmer, C. 1978. Abscisic Acid, and guard cells of *Commelina communis* L. Nature. 271: 652-633.
- 26.- Jones, R.J. y Mansfield, T.A. 1970. Suppression of stomatal opening in leaves treated with abscisic Acid. J. Exp. Bot. 21: 714-719.
- 27.- Kramer, J.P. 1974. Relaciones hídricas de suelos y plantas. 1a. Edición. Edutex, S.A. México, D.F. 336-381.

- 28.- Larqué-Saavedra, A. y Wain, R.L. 1974. Abscisic acid levels in relations to drought tolerance in varieties of *Zea mays* L. Nature. 251: 716-717.
- 29.- Larqué-Saavedra, A. 1975. Studies on hormonal aspects of plant growth in relation to chemical and environmental treatments. Ph.D. Thesis. London. Univ.
- 30.- \_\_\_\_\_. 1978. The role antitranspirant effect of acetyl salicylic acid on *Phaseolus vulgaris*. Physiol. Plant. 43: 126-128.
- 31.- \_\_\_\_\_. 1979. Stomatal closure in response to acetyl salicylic acid treatment. Z. Pflanzenphysiol. 93: 371-375.
- 32.- Mansfield, T.A. 1971. Los estomas: dispositivos sensores versátiles, pero difíciles sujetos de experimentación. (Traducción del Journal of Biological Education, 1971. 5: 115-123 por Josué Kohashi S. Rama de Botánica. C.P.).
- 33.- Meidner, H. y Mansfield, T.A. 1968. Physiology of Stomata. Mc. Graw-Hill. London. : 1-25.
- 34.- Milburn, A.J. 1979. Water flow in plants. 1a. Edition. Butter Tanner Ltd. Frome and London. 127-140.
- 35.- Mishra, D. y Pradhan, G.C. 1968. Delayed wilting of tomato plants by chemical closure of stomata. Bot. Mag. Tokyo. 81: 219-225.
- 36.- \_\_\_\_\_. 1972. Effect of transpiration reducing chemicals on growth, flowering, and stomatal opening of tomato plants. Plant. Physiol. 49: 722-724.

- 37.- Norris, F.R. y Bukovac, J.M. 1972. Effect of pH on penetration of Naphthaleneacetic acid and Naphthaleneacetamide through isolated pear leaf cuticle. *Plant. Physiol.* 49: 615-618.
- 38.- Ogunkanmi, A.B., Wellburn, A.R. y Mansfield, T.A. 1974. "Detection and preliminary identification of endogenous antitranspirants in water-stress Sorghum plants". *Planta.* 117: 293-302.
- 39.- Robertson, M.M. y Kirkwood, C.R. 1969. El modo de acción de los herbicidas translocables aplicados al follaje con relación particular a los compuestos fenoxi-ácidos. *Weed. Res. O.* 224-240.  
(Traducido por: Ing. Armando Tasistro Souto. U.A.CH.).
- 40.- Sattinoff, E. 1972. Salicilatos: Action on normal body temperature in Rats. *Science.* 176: 532-533.
- 41.- Schönherr, J. y Bukovac, M.J. 1972. Penetration of stomata by liquids. *Plant. Physiol.* 49: 813-819.
- 42.- Souza, F. 1974. Efecto de cuatro antitranspirantes de origen vegetal sobre la eficiencia del uso del agua por cultivo de frijol. Tesis de Maestría en Ciencias. C.P. Chapingo, Méx.
- 43.- Travis, A.J. y Mansfield, T.A. 1977. Studies of malate formation in isolated guard cell. *New Phytol.* 78: 541-546.
- 44.- Tucker, J.D. y Mansfield, T.A. 1971. A simple bioassay for detecting "antitranspirant" activity of naturally occurring compounds such as Abscisic Acid. *Planta.* 98: 157-163.
- 45.- Urie, K., Davenport, D.C. y Hagan, R.M. 1975. Preharvest antitranspirant spray on cherries. Part I. Effect on fruit size. *California Agricultura.* 29: 7-9.

- 46.- Wain, R.L. 1979. El control químico del crecimiento de las plantas. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. 13-25 pp.
- 47.- Walker, D.A. y Zelitch, I. 1963. Some effect of metabolic inhibitors, temperature, anaerobic conditions on stomatal movements. Plant. Physiol. 38: 390-396.
- 48.- Wellburn, A.R., Ogunkanmi, A.B., Fenton, R. y Mansfield, T.A. 1974. "All-trans-Farnesol: a Naturally Occurring Antitranspirant". Plants, 120: 255-263.
- 49.- Wilson, J.A. y Davies, W.J. 1979. Farnesol-like antitranspirant activity and stomatal behaviour in maize and sorghum lines of different drought tolerance. Plant. Cell and Environment. 2: 49-57.
- 50.- Wright, S.T.C. 1969. An increase in the "Inhibitor- $\beta$ " content of detached wheat leaves following period of wilting. Planta. 86. 10-20.
- 51.- Wright, S.T.C. y Hiron, R.W.P. 1969. ( $\pm$ ) Abscisic Acid the growth inhibitor in detached wheat leaves following a period of wilting. Nature. 224: 719-720.
- 52.- Zelitch, I. 1964. Reduction of transpiration in leaves though stomatal closure induced by Alkenylsuccinic acid. Science. 143: 692-693.
- 53.- Zelitch, I. y Waggoner, E.P. 1962. Effect of chemical control of stomata on transpiration and photosynthesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 48: 1101-1108.

A P E N D I C E

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M sobre transpiración de frijol con: glicerol 0.25, 0.5 ó 1% pH 4.5. (Tabla Ia.).

Tratamiento	Promedio de mg. $H_2O$ $cm^{-2}$ 24 hs.	Varianza ( $S^2$ )	Error Estandar
glicerol 0.25%	156.99	78.48	3.93
A.S. + glicerol 0.25%	148.04	20.05	2.0
glicerol 0.5%	159.13	141.83	5.34
A.S. + glicerol 0.5%	131.16	6.61	1.15
glicerol 1%	148.19	303.67	7.81
A.S. + glicerol 1%	142.42	76.79	3.92
sin asperjar	143.35	48.04	3.10

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M sobre transpiración de frijol con: plyac 1, 2 ó 4 pH 4.5. (Tabla IIa.).

Tratamiento	Promedio de mg. $H_2O$ $cm^{-2}$ 24 hs.	Varianza ( $S^2$ )	Error Estandar
plyac 1	122.56	36.81	2.72
A.S. + plyac 1	108.70	61.16	3.50
plyac 2	126.82	50.66	3.19
A.S. + plyac 2	111.23	28.89	2.41
plyac 4	120.63	22.08	2.10
A.S. + plyac 4	110.12	24.94	2.23
agua destilada	131.88	352.80	3.42

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  sobre transpiración de frijol con: spreader-sticker 1, 2 6 4 pH 4.5. (Tabla IIIa.).

Tratamiento	Promedio de		Varianza ( $S^2$ )	Error Estandar
	mg. $H_2O$ $cm^{-2}$ 24 hs.			
S-sticker 1	127.81		8.10	1.27
A.S. + S-sticker 1	130.95		32.29	2.54
S-sticker 2	129.75		32.74	2.56
A.S. + S-sticker 2	123.01		32.24	2.53
S-sticker 4	122.15		58.27	3.42
A.S. + S-sticker	123.66		97.70	4.43
Agua destilada	149.93		29.33	2.42

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  + glicerol 0.5% sobre transpiración de frijol a diferentes pH's 3.5, 4.5 y 5.5. (Tabla Ib).

Tratamiento	Promedio de		Varianza		Error	
	mg. $H_2O$ $cm^{-2}$ 24 hs. 48 hs.		( $S^2$ ) 24 hs. 48 hs.		Estandar 24 hs. 48 hs.	
glicerol 0.5% pH 3.5	140.36	174.42	13.86	17.73	1.66	1.88
A.S. + glicerol 0.5%	104.87	139.90	54.03	13.0	3.29	1.61
glicerol 0.5% pH 4.5	150.93	179.49	46.74	18.03	3.06	1.90
A.S. + glicerol 0.5%	136.72	152.98	27.92	93.89	2.36	4.43
glicerol 0.5% pH 5.5	156.51	176.41	51.07	128.60	3.20	5.08
A.S. + glicerol 0.5%	130.56	151.71	25.92	37.89	2.28	2.76
agua destilada	147.49	171.12	44.03	218.44	2.97	6.63

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3} M$  + glicerol 0.5% sobre transpiración de frijol a diferentes pH's 6.5 y 7.5. (Tabla Ib').

Tratamiento	Promedio de mg. H <sub>2</sub> O cm <sup>-2</sup>		Varianza (S <sup>2</sup> )		Error Estandar	
	24 hs.	48hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
glicerol 0.5% pH 6.5	158.34	185.89	14.57	41.69	1.44	2.44
A.S. + glicerol 0.5%	137.55	156.36	21.47	44.37	1.75	2.52
glicerol 0.5% pH 7.5	162.69	176.68	103.45	48.22	3.85	2.64
A.S. + glicerol 0.5%	144.45	158.66	26.16	110.17	1.93	3.97
agua destilada	161.78	180.11	40.0	96.63	2.39	3.72

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  + plyac 2 sobre transpiración de frijol a diferentes pH's 4.5 y 5.5. (Tabla IIb).

Tratamiento	Promedio de mg. H <sub>2</sub> O cm <sup>-2</sup>		Varianza (S <sup>2</sup> )		Error Estandar	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
plyac 2 pH 4.5	130.35	177.58	72.77	142.44	3.23	4.52
A.S. + plyac 2	122.11	167.81	76.13	117.32	3.30	4.10
plyac 2 pH 5.5	143.44	168.26	29.23	119.34	2.04	4.13
A.S. + plyac 2	127.72	160.92	76.42	125.19	3.31	4.23
agua destilada	137.16	178.55	98.72	161.63	3.76	4.81

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  + ptyac 2 sobre transpiración de frijol a diferentes pH's 6.5 y 7.5. (Tabla IIB').

Tratamiento	Promedio de mg. H <sub>2</sub> O cm <sup>-2</sup>		Varianza (S <sup>2</sup> )		Error Estandar	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
ptyac 2 pH 6.5	183.28	125.51	40.43	10.75	2.40	1.24
A.S. + ptyac 2	165.62	114.54	49.78	43.82	2.67	2.50
ptyac 2 pH 7.5	173.47	127.80	113.94	40.68	4.04	2.41
A.S. + ptyac 2	156.78	112.02	33.66	38.91	2.19	2.36
agua destilada	175.79	132.13	99.28	69.37	3.77	3.15

Efecto de ácido salicílico  $3 \times 10^{-3}$  M y ABA  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$  M + glicerol 0.5% sobre transpiración de frijol pH 5.5. (Tabla Ic).

Tratamiento	Promedio de mg. H <sub>2</sub> O cm <sup>-2</sup>		Varianza (S <sup>2</sup> )		Error Estandar	
	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.	24 hs.	48 hs.
ABA $10^{-4}$ M + glicerol 0.5%	124.17		5.82		1.08	
ABA $10^{-5}$ M + glicerol 0.5%	165.46		102.66		4.54	
ABA $10^{-5}$ M + glicerol 0.5%	184.90		46.78		3.06	
ABA $10^{-7}$ M + glicerol 0.5%	190.87		52.54		3.25	
A.S. + glicerol 0.5%	161.20		46.27		3.02	
agua destilada + glicerol 0.5%	188.01		109.85		4.70	
agua destilada	183.12		52.70		3.25	