



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
I Z T A C A L A**

**ENSAYO BIOLÓGICO PARA LA DETECCIÓN DE UN
FACTOR DE CRECIMIENTO VEGETAL PRESENTE
EN XOCONECUTLI (MIEL AGRIA)**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I O L Ó G O
P R E S E N T A
FERMIN BRINGAS CONTRERAS

LOS REYES IZTACALA, MEX.

1988





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.

A LA MEMORIA DE MI MADRINA PIEDAD NAVARRO Y
DE MI PADRE EDUARDO BRINGAS M.

A MI PADRINO ADALBERTO SALAS A. Y A MI PRIMO
BIOLOGO ADALBERTO SALAS N. POR LA AYUDA DESINTERESADA
QUE ME HAN BRINDADO TODA LA VIDA Y A QUIENES DEBO
MI FORMACION.

A MI ESPOSA ESTELITA POR SU
GRAN CARIÑO, COMPRENSION Y PA-
LABRAS DE ALIENTO.

A MIS HIJOS:

FERMIN EDUARDO

DANIEL

EMMANUEL.

A MIS HERMANOS

A G R A D E C I M I E N T O S

MI MAS SINCERO AGRADECIMIENTO AL CLUB ROTARIO LA VILLA: A CORAZA CORPORACION AZTECA; Y A LA SRITA. ALICIA MUCIÑO, POR LA VALIOSA AYUDA BRINDADA PARA LA ELABORACION DE ESTA TESIS.

AL DR.ENRIQUE A. SANCHEZ SALOMA POR LA DIRECCION DE ESTE TRABAJO.

AL LIC.DAVID MARTINEZ CALDERON POR LA AYUDA PRESENTADA EN EL TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS.

A LA DRA.ROXANA CAMACHO MORFIN Y A LA BIOL.MARIA CONCEPCION GALLARDO VAZQUEZ POR SUS PALABRAS DE ALIENTO QUE ME BRINDARON.

A LOS MIEMBROS DEL JURADO:

M. EN C. GABRIEL CAMARENA GUTIERREZ
M. EN C. EDUARDO BARRERA ESCORCIA
I. B. Q. ABEL FUENTES TOLEDO
DR.EN C. ENRIQUE A. SANCHEZ SALOMA
BIOL. JOSE LUIS ANDRADE TORRES

AL DR. ENRIQUE SANCHEZ POSADAS
(q. e. p. d.) DESCUBRIDOR DEL
XOCONECUTLI

ESTE TRABAJO SE REALIZO EN EL LABORATORIO
DE MICROBIOLOGIA Y BIOQUIMICA DE LA SECCION DE
GRADUADOS E INVESTIGACION DE LA ESCUELA NACIONAL
DE MEDICINA Y HOMEOPATIA DEL INSTITUTO
POLITECNICO NACIONAL

I N D I C E

	Pág.
I.- RESUMEN.....	1
II.- INTRODUCCION.....	2
III.- ANTECEDENTES.....	6
III.a.- Auxinas.....	8
III.b.- Citocininas.....	15
III.c.- Giberelinas.....	19
III.d.- Etileno.....	22
III.e.- Acido abscísico.....	25
IV.- MATERIAL Y METODOS.....	28
V.- RESULTADOS Y DISCUSION.....	37
VI.- CONCLUSIONES.....	41
VII.- BIBLIOGRAFIA.....	42
APENDICES.....	50

I.- RESUMEN

En este trabajo se detectó la hormona ácido indol acético (AIA) a partir del Xoconcutli (miel agria, en náhuatl), que es un medicamento elaborado a partir del aguamiel (savia elaborada) de magueyes del tipo Agave atrovirens Karw., esta "materia prima" es fermentada por la cepa bacteriana M.G.X.N. (microorganismos aislados, seleccionados y condicionados de la flora de implantación del maguey). La detección se hizo a través del ensayo biológico denominado "prueba del segmento de avena" que es específico para auxinas y en el cual utilizamos diferentes concentraciones de Xoconcutli liofilizado, observando que había crecimiento (elongación) de los segmentos de coleptilo de avena, al final del período de incubación. Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente por medio de los métodos llamados "análisis de varianza" y la "prueba de Duncan", dándonos una confiabilidad de que la hormona se encuentre presente en Xoconcutli de un 99% y 95% respectivamente.

II.- INTRODUCCION

El "Xoconcutli" (miel agria, en náhuatl); es un producto natural obtenido a partir del maguey Agave atrovirens Karw. de la familia Amaryllidaceae. La materia prima es el aguamiel (savia elaborada), obtenida en un estadio de crecimiento y diferenciación de la planta, previa al desarrollo del verticilio floral, que corresponde a su vez, a una concentración óptima de "factores de crecimiento" u "hormonas vegetales", tales como auxinas, citocininas, ácido giberélico, ácido abscísico, azúcares, cofactores o coenzimas.

Esta "materia prima" es procesada con una técnica microbiológica, en la que se utilizan las cepas M.G.X.N. (microorganismos aislados, seleccionados y condicionados de la flora de implantación del maguey, en los estadios anteriormente descritos), a partir de dichos materiales se generan: mucinas, glucoproteínas y mucopolisacáridos. El producto así obtenido permite, en virtud de su composición, estructura y funcionamiento a nivel biológico, bioquímico, fisiológico e histológico, una serie de aplicaciones terapéuticas en casos de esofagitis péptica, gastritis, úlceras gástricas o duodenales, a diversos niveles, así como de fenómenos iatrogénicos consecuentes de una antibioteco-

terapia prolongada (Sánchez y Sánchez, 1984; Sánchez et.al. 1982; Ulloa y Herrera, 1976).

Existen numerosas especies y variedades de magueyes productores de aguamiel, destacándose entre ellos el maguey manso, cuyo nombre científico es A. atrovirens Karw. Este es el típico maguey de pulque. Su raíz es fibrosa; su tallo muy corto y grueso; las hojas, cuyo número varía de 30 a 50, son de color verde oscuro; sus bordes están provistos de espinas triangulares y rematan en una púa fuerte y oscura; las hojas son grandes, pues su longitud varía de 1.0 a 2.5 m., y su ancho es de unos 30 cm., son muy gruesas y angostas cerca de la base y se distribuyen muy juntas en torno del tallo formando una roseta, lo que determina la forma característica del maguey.

El maguey florece sólo una vez y muere poco después. La edad en que se inicia la floración depende de diversos factores, tales como la especie o la variedad, las características del terreno, el clima y los cuidados agrícolas que se le hayan proporcionado. En los magueyes cultivados la floración se presenta de los 8 a los 12 años, pero en los silvestres es más tardía. Al llegar a la floración, la yema central de la planta o cogollo (meyolote) emite

un tallo o pedúnculo floral llamado quiote, que se desarrolla en poco tiempo y cuya altura llega a ser superior a 5.0 m.; este tallo floral remata en un enorme racimo compuesto cuyas ramificaciones tienen numerosos grupos de flores erguidas, de color verde amarillento (Loyola, 1956).

El crecimiento de la planta es dinámico y complejo, pero estrictamente controlado. Son numerosos y complicados los mecanismos por los cuales se lleva a cabo el control interno de la misma. Como resultado de extensos estudios actualmente se conoce que diversas sustancias, entre ellas las hormonas, tienen un papel muy importante en el control del crecimiento.

Hill (1977) define a una hormona vegetal como "una sustancia orgánica que es sintetizada en el interior de una planta y que, a bajas concentraciones, puede activar, inhibir o modificar cualitativamente el crecimiento, ejerciendo normalmente esta acción en un lugar distinto al del origen. Su efecto no es debido ni a su valor calórico ni a su contenido en elementos esenciales".

El término hormona también lo utilizan los fisiólogos en animales. ellos definen la hormona como una sustancia sin-

tetizada en una glándula secretora específica, para producir un efecto típico y específico en un sitio distante a su punto de origen. En el caso de las hormonas vegetales no se puede definir claramente su sitio de síntesis, que de hecho sucede en células indiferenciadas y el efecto depende del tipo de órgano o tejido sobre el cual actúe. Por estas razones, a las hormonas vegetales frecuentemente se les llama "reguladores del crecimiento", "sustancias del crecimiento" o "biorreguladores". En general, el término "reguladores del crecimiento" parece ser el más apropiado (Wareing y Phillips, 1973).

El objetivo de este trabajo fué detectar la presencia de un factor de crecimiento vegetal (en particular auxinas) presente en Xoconcutli, utilizando un ensayo biológico específico.

III.- ANTECEDENTES

La ocurrencia de hormonas vegetales en el aguamiel de agave se analizó por citocultivos establecidos en el medio TMS a partir de hojas de frijol, Phaseolus vulgaris; en los cuales se desarrolló un tejido radicular abundante (López y Carrillo, 1978).

A través de investigaciones realizadas para determinar si existe actividad hormonal en aguamiel, el tipo de respuesta en los bioanálisis es altamente específica y reproducible durante un período de 6 meses de la producción de aguamiel por la planta (Carrillo y López, 1977).

En cultivo de tejidos in vitro (callos) con células de A. atrovirens Karw., empleándose diferentes medios de cultivo suplementados con aguamiel y auxinas a diferentes concentraciones (Sánchez y Yamada, 1977). Estos callos presentaron cierta diferenciación de primordios foliares y radiculares al someterlos a bioensayos para detectar de que clase de factor de crecimiento se trataba (Sánchez y Castañeda, 1978)

Las observaciones logradas al suplementar el aguamiel al medio de cultivo TMS e inoculándose segmentos de tejido de hoja de papa, alfalfa y frijol indican que existe formación de callosidades y diferenciación de raíz (González, 1978).

El aislamiento y la caracterización biológica y química de una citocinina contenida en aguamiel de A. atrovirens Karw., que resultó ser zeatina, fue realizado en el momento de desarrollo del verticilio floral (Martínez y Jasso, 1983).

En los últimos 30 años; el desarrollo en el campo de los reguladores del crecimiento vegetal ha sido impresionante. Como es bien conocido, algunos de estos materiales tienen ahora uso importante en la agricultura y juegan un papel vital en el incremento de la producción de cosechas (Wightman, 1956).

Las hormonas vegetales pueden clasificarse en inductoras e inhibitoras del desarrollo, siendo las primeras las auxinas, citocininas, giberelinas y etileno, mientras que las segundas son los derivados del ácido abscísico (Van Oerberveek, 1966).

III.a.- AUXINAS

Auxina es un término genérico que se aplica al grupo de compuestos caracterizados por su capacidad para inducir la extensión de las células de los brotes (Weaver, 1985).

La estimulación del crecimiento en tallo y coleoptilo por las auxinas ha sido la prueba más común para medir auxinas en extractos de diferentes partes de la planta. Dos pruebas se han usado, la primera es el alargamiento del coleoptilo, en el cual la simple elongación en soluciones testigo es comprobada. La otra prueba es la curvatura del coleoptilo, a los cuales se les aplica lateralmente bloques de agar que contienen auxinas, y el estímulo del crecimiento en el lado tratado da como resultado un crecimiento en curva, esta prueba es sensible únicamente a auxinas, las cuales son rápidamente transportadas en forma polar por el tejido del coleoptilo (Leopold y Kriedeman, 1975).

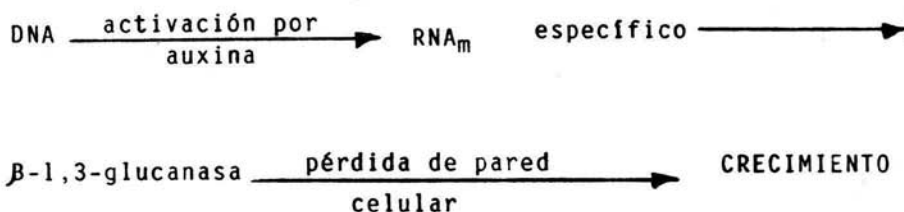
Cuando se considera la elongación inducida por la auxina en coleoptilos de cereales, uno de los bioensayos empleados en el estudio de la acción de los reguladores del crecimiento vegetal, permite observar que el proceso precede en dos estados:

1).- Incremento de la plasticidad de la pared celular (habilidad de los tejidos para extenderse irreversiblemente), opuesta a la elasticidad la cual es reversible. El incremento es aparentemente el doble al rompimiento de uniones entre la celulosa de la pared, este paso requiere de auxinas y O_2 .

2).- La incorporación osmótica de agua causa un incremento de la presión de turgencia y por lo tanto un aumento del volumen, que provoca crecimiento celular, este proceso no requiere auxinas, ni oxígeno.

El hecho de que las auxinas induzcan la aparición de diferentes tipos de RNA_m durante el período LAG^{*}, se sugiere que estos expresan finalmente una participación enzimática en la hidrólisis de la pared celular; una de ellas es la β -1,3 glucanasa, la cual actúa sobre la hemicelulosa, despolimerizando así la pared celular e incrementando la plasticidad (Masuda y Kamisaka, 1969).

* El período LAG es considerado el mínimo lapso de tiempo que transcurre entre la aplicación del regulador al tejido y la detección de la respuesta fisiológica. Es decir, es el período entre la aplicación de la auxina a los coleótilos y el comienzo de la elongación.



Concerniente a la relación entre la polaridad morfológica y el transporte polar de las auxinas se dice que "la polaridad morfológica del embrión y la plántula precede al transporte polar. Así, el transporte polar es más o menos parecido a una manifestación fisiológica inherente a la polaridad longitudinal de la planta" (Goldsmith, 1969). Este punto de vista está basado en los estudios realizados sobre el transporte de auxinas usando hipocotilos de Phaseolus sp. y un bloque donador receptor de agar (método de la curvatura de avena); concluyéndose que los hipocotilos transportan auxinas tres días después de la germinación y se manifiesta un aumento del transporte basipétalo (del ápice a la base) a los ocho días. No se detectó transporte acropétalo (de la base del ápice) a cualquier edad (Jacobs, 1950).

Desde los primeros días del descubrimiento de las auxinas, el ácido indol acético (AIA) ha tenido una posición central como una auxina vegetal. Numerosos compuestos indóli

cos han sido reportados como reguladores vegetales, por ejemplo el indolacetaldehído, indolpirúvico, e indolacetonitrilo, sin embargo se pensaba que la actividad de auxina de cada uno de estos compuestos, puede ser probablemente una conversión a AIA; lo cual se confirmó cuando el indolacetaldehído fué identificado como un compuesto activo en plantas y subsecuentemente se estableció que su participación en la estimulación del crecimiento celular es debida a su conversión en AIA, por esto se le consideró como un precursor inmediato del AIA en la ruta metabólica del triptófano (Larsen, 1944). Así tenemos otro compuesto importante llamado ácido indolpirúvico que fué reportado como una auxina en el maíz por Yamaki y Nakamura en 1952 y que es considerado el mayor intermediario en la conversión del triptófano en AIA (Schneider et. al., 1972).

La triptamina es otro compuesto que puede ser intermediario en la biosíntesis de AIA, ha sido detectada como un compuesto natural de las plantas y se le considera dentro del grupo de las auxinas (Muir y Lantican, 1968). El indolacetonitrilo proviene de un glucósido aceitoso, la glucobrasina, que es un componente natural de la familia Crucíferas y depende para tener actividad de auxina, de su conversión en AIA por medio de la enzima nitrilasa (Thimann, 1958). Otro intermediario en la biosíntesis del AIA, puede

ser el indoletilanol el cual se encuentra presente en plántulas de pepino (Rojas y Rovalo, 1984). Se ha encontrado que el triptófano es el precursor del AIA en plantas, obteniéndose éste a través de los siguientes pasos: una desaminación oxidativa para formar indolpiruvato, una descarboxilación para formar indolacetaldehído y la oxidación del grupo aldehído para obtener AIA (Galston y Davies, 1970). A la vez puede el triptófano sufrir una descarboxilación para formar triptamina, seguido de una desaminación oxidativa obteniéndose indolacetaldehído y la oxidación para formación AIA (Moore, 1979). Fig. 1.

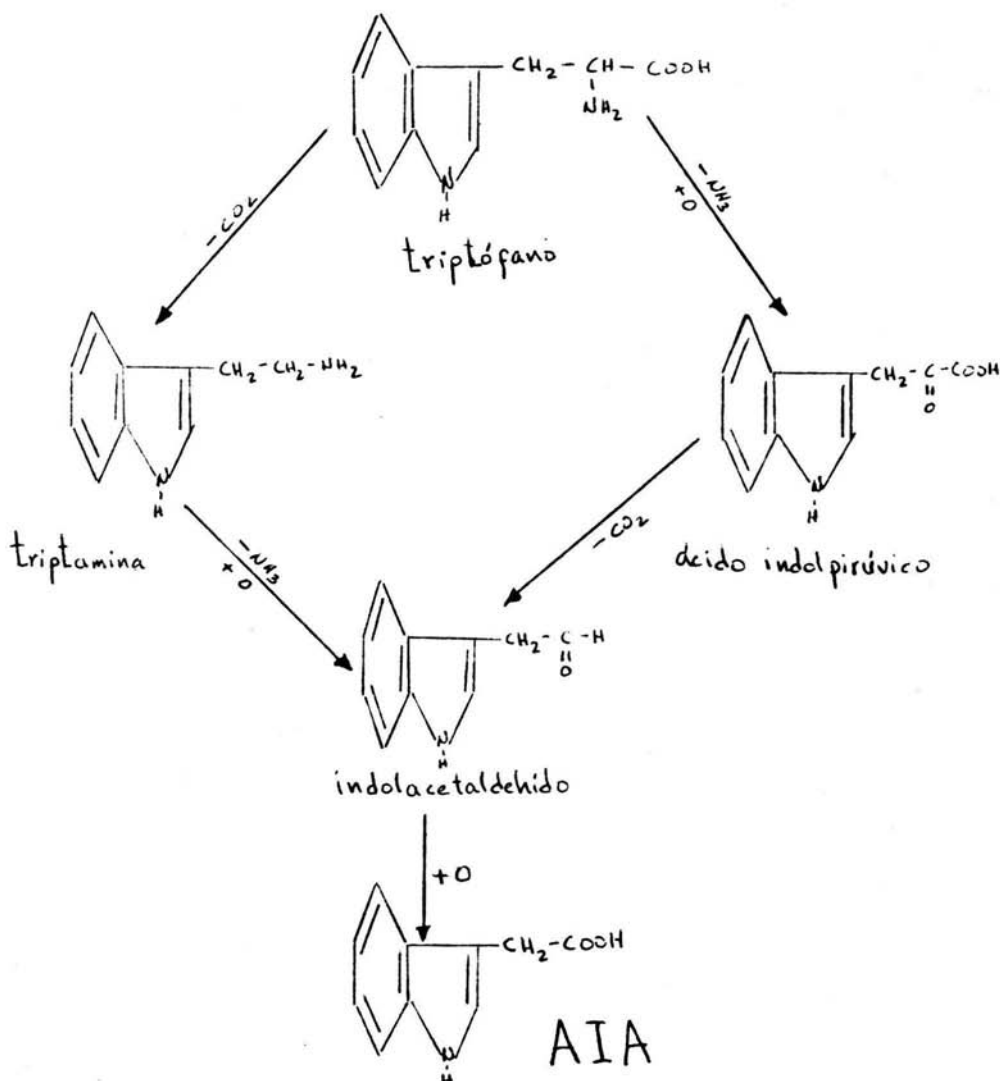


Fig. 1. Posible camino metabólico para la síntesis del AIA a partir del triptófano. (Tomado de Devlin, 1970).

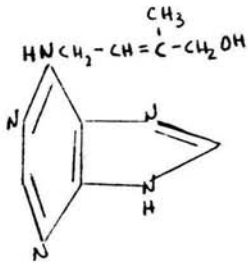
De acuerdo a Hill (1977), Galston y Davies (1970), Weaver (1985), Rojas (1972), y Devlin (1970), los efectos fisiológicos más importantes inducidos por las auxinas en los vegetales son:

- 1).- Afecta las respuestas trópicas.
- 2).- Inducen la elongación celular.
- 3).- Estimulan la división celular, fomentando el desarrollo de callos.
- 4).- A bajas concentraciones produce una aceleración de la respiración.
- 5).- Son importantes en la diferenciación celular del xilema.
- 6).- Mantienen la dominancia apical, estimulan la producción de etileno y la floración de la piña y mango.
- 7).- Afectan la abscisión de las hojas o de los frutos.

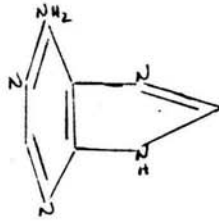
III.b.- CITOCININAS

Las citocininas son consideradas como reguladores del crecimiento vegetal, interviniendo directamente en la división celular (citoquinesis), su papel en las plantas ha sido estudiado y reconocido poco a poco. El descubrimiento de estos reguladores del crecimiento proviene de los trabajos realizados por Haberlandt, quien demostró, cultivando embriones y tejidos *in vitro*, que existía un factor difusible, el cual afectaba a las células parenquimatosas de la papa (Hurtado y Merino, 1987). En 1955, Miller y co laboradores, separaron del DNA de esperma de arenque el primer regulador de la división celular conocido, al cual llamaron cinetina y se le identificó como 6-furfuril-amino purina (Moore, 1979). Posteriormente Letham en 1964, al trabajador con granos de maíz identificó la primera citocinina en plantas a la cual denominó zeatina, la cual con una cadena de isopreno es la citocinina natural más activa hasta ahora, la disposición de las purinas a unirse con una ribosa y a un fósforo inorgánico permite pensar que las citocininas no existen libres, sino normalmente en forma de ribonucleótido (Miller, 1965). Fig. 2.

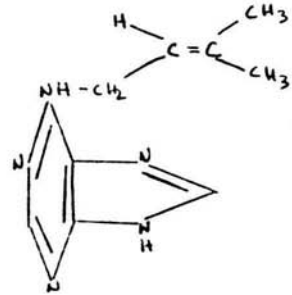
CITOCININAS NATURALES



zeatina

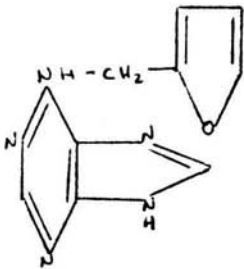


adenina

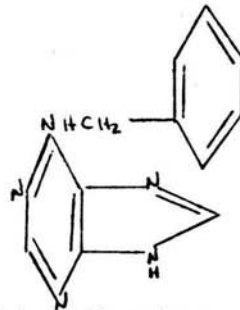


N^6 isopentenil-adenosina (iPA)

CITOCININAS ARTIFICIALES



6-furfuril-aminopurina (cinetina)



6-bencil-aminopurina (BA)

Fig. 2. Fórmulas estructurales de algunas citocininas naturales, artificiales y de la adenina.

Los embriones y frutos jóvenes son las fuentes más comunes de citocininas (Hecht, 1969), raíces (Steward, 1956) y especialmente los exudados de la raíz son ricos en citocininas (Weiss y Vaadia, 1965).

La síntesis natural de citocininas no se conoce, pero químicamente basta sustituir con ciertos grupos el N⁶ de la adenina, compuesto de gran importancia biológica por conferir actividad citocínica; estos grupos pueden ser: bencilaminopurina, naftilaminopurina, furfurilaminopurina y otros similares. No se conoce bien la acción fundamental de las citocininas; fundadamente se supone que se adhiere al RNA_t y cuando esto sucede en determinados sitios provoca el funcionamiento de ciertos codones, controlando así la síntesis de algunas proteínas o enzimas. En cualquier forma, está comprobado que induce la actividad de las amilasas, proteasas, la síntesis de tiamina y auxinas (Rojas, 1972).

En base a lo mencionado por Letham (1967), Hill (1977), Rojas (1972), y Weaver (1985), los efectos fisiológicos que las citocininas provocan en las plantas son:

- 1).- Promueven la división y la diferenciación celular en varios tejidos vegetales aislados.

- 2).- Inducen la partenocarpia en algunos frutos.
- 3).- Inducción del crecimiento en tallos y ramas; rompimiento de letargo de yemas y semillas y efectos sobre la dominancia apical.
- 4).- Retrasan el envejecimiento de los tejidos vegetales.
- 5).- Promueven el transporte, acumulación y retención de metabolitos en tejidos y órganos.

III.c.- GIBERELINAS

Las giberelinas son diterpenos, los cuales están compuestos por cuatro unidades de isopreno, usualmente arregladas para formar 3 anillos y son constituyentes comunes de resinas de coníferas. Los diterpenos, que usualmente tienen 4 anillos, son compuestos comunes de las plantas, especialmente como glucósidos. Las giberelinas diterpénicas tienen un puente adicional de lactona. El número de giberelinas conocidas de hongos y de plantas continúa incrementándose, las variaciones entre ellas son principalmente con respecto a la presencia o ausencia de una unión insaturada en el anillo A, el número y localización de sustituciones -OH y el número de grupos carboxilo. Las GA_4 , GA_1 y GA_3 (ácido giberélico), son algunas de las giberelinas más abundantes en las plantas y la manera probable de interconversión es llevada a cabo dentro de la planta (Rojas, 1972).

Fig. 3.

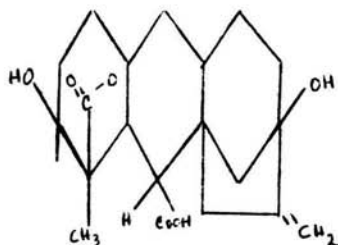


Fig. 3. Fórmula estructural del ácido giberélico (GA_3).

Además de las giberelinas diterpenoides lactonas, que tienen la propiedad de estimular el crecimiento, se conocen otros constituyentes naturales de las plantas con esta propiedad, por ejemplo, el ácido kaurenóico, que es reportado como un compuesto natural con actividad de giberelina en bioensayos con arroz (Katsumi, 1964), así como el esteviol (Ruddat et. al., 1963). Es probable que estos compuestos muestren actividad como resultado de su conversión a sustancias del tipo de las giberelinas.

El ácido giberélico puede ser detectado en gran variedad de plantas y en diferentes estadios de crecimiento, en pruebas a diferentes intervalos de tallos de girasol, indican que la cantidad de ácido giberélico se incrementa en la parte próxima al ápice (Jones y Phillips, 1966). Las giberelinas son sintetizadas también en las hojas jóvenes, moviéndose en forma basipétala, pero pueden transportarse hacia el ápice; también son sintetizadas en la raíz (Rojas y Rovalo, 1984), y en frutos (Baldev y Lang, 1965).

En cuanto a la biosíntesis de giberelinas en plantas los precursores inmediatos son el acetato y el mevalonato, formándose éste último a partir del primero, para luego transformarse a isopentenil-pirofosfato seguido de una

conversión enzimática hasta ácido kaurenóico y de ahí hasta ácido giberélico (Galston y Davies, 1970).

Abocándonos a lo referido por Devlin (1970), Hill (1977), Rojas (1972), y Weaver (1985), los efectos fisiológicos causados por las giberelinas son:

- 1).- Promueven el alargamiento celular e inducen la partenocarpia.
- 2).- Aceleran la germinación de semillas en general.
- 3).- Producen el crecimiento normal de plantas genéticamente enanas y de especies cuyo desarrollo del tallo hace que nunca pasen del estado de roseta.
- 4).- Provocan la floración en especies que requieren temperaturas frías.

III.d.- ETILENO

El etileno puede parecer una sustancia curiosa para considerarla como un regulador de crecimiento vegetal. Es una molécula simple, comparada con una molécula de giberelina. Más aún, es un regulador de crecimiento vegetal gaseoso. Esta es una ventaja ya que es difusible, al contrario de los que necesariamente se mueven a través de las células para alcanzar su sitio de acción.

La producción de etileno, durante el desarrollo de las plantas superiores varía de órgano a órgano, en tiempo y desarrollo. La mayor producción de etileno está asociada con tejido meristemático y tejido nodal, mientras bajas cantidades se encuentran en las regiones internodales; altas cantidades aparecen en yemas latentes y decrecen lentamente en hojas y flores en expansión. De nuevo hay un incremento durante la senescencia y la abscisión de tejido foliar, indicando esto que el etileno juega un papel activo en la regulación de la caída de hojas y flores.

El etileno es producido en los frutos a partir de metionina y el azufre de este aminoácido se recircula varias veces hasta que el fruto llega a su madurez total (Romo, 1985). Fig. 4.

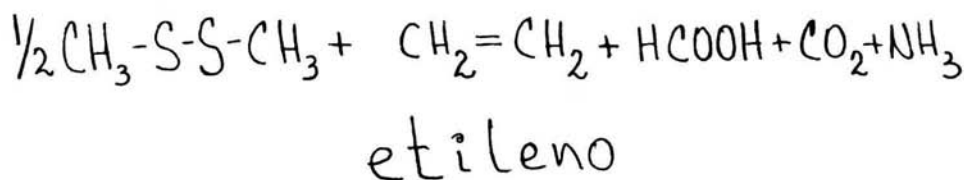
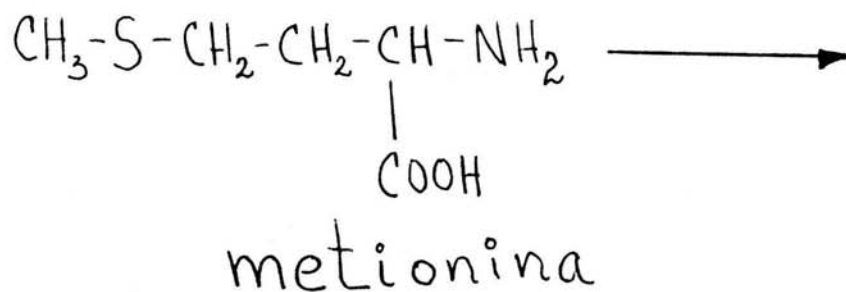


Fig. 4. Síntesis del etileno a partir de metionina.

Según Weaver (1985), Hill (1977), Romo (1985), y Rojas (1972), los efectos fisiológicos principales causados por el etileno en las plantas son:

- 1).- Estimula la germinación y el crecimiento de los brotes.
- 2).- Induce la epinastia en las hojas.
- 3).- Tiene efectos sobre la maduración de los frutos.
- 4).- Inducción de raíces adventicias.
- 5).- Inhiben el transporte de auxinas en el interior de la planta.

III.e.- ACIDO ABSCISICO

El ácido abscísico (ABA) es una sustancia que se encuentra ampliamente distribuida en el reino vegetal. La función que se le ha determinado es la de inhibir el crecimiento. Cuando se habla de sistemas inhibidores se deben considerar las sustancias del grupo de las auxinas, las cuales actúan en función de su concentración, sabiéndose que a bajas concentraciones incrementan el crecimiento y a altas concentraciones lo inhiben. También se debe considerar a las giberelinas y a las citocininas, que lo pueden inhibir de alguna maenra, aunque esto es poco común.

Esta sustancia fué descubierta en 1965 por dos estudios independientes, uno estudiaba la latencia y el otro la abscisión o caída de las hojas. Un tercer estudio demostró haber aislado un inhibidor asociado a la abscisión de las vainas de altramuza, que era idéntico a los anteriores. Finalmente, se decidió dar un nombre común a esta sustancia, que fué el de ácido abscísico o ABA (Hill, 1977).

La purificación de la abscisina y la dormina mostró que estas dos sustancias eran idénticas. El compuesto es denominado actualmente ABA y se forma a partir del ácido

mevalónico, como los demás sesquiterpenos teniendo como intermediario al pirofosfato de farnesilo (Romo, 1985).Fig.5.

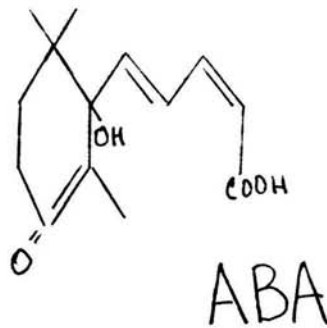
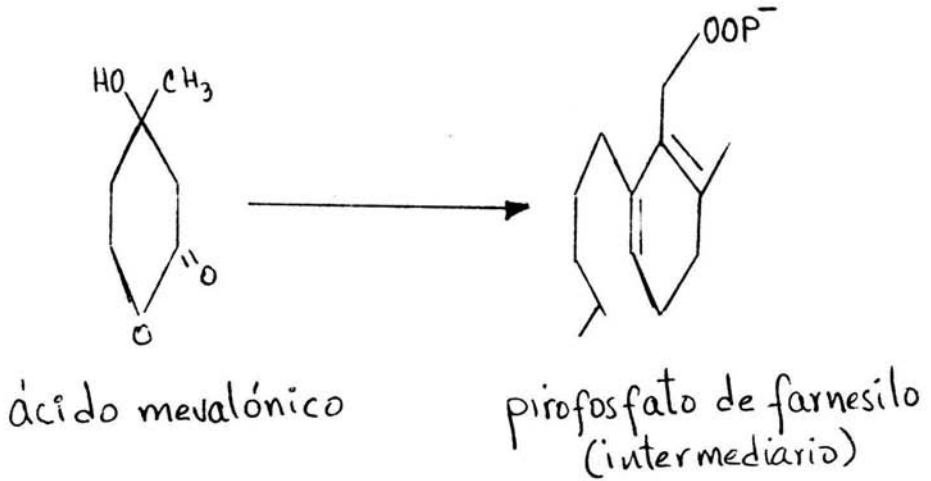


Fig. 5. Síntesis del ácido abscísico (ABA) a partir del ácido mevalónico.

El ABA presenta transporte basipétalo y acropétalo por el xilema o floema. Su inactivación es rápida. Los efectos principales que provoca son una aceleración en la pérdida de clorofila, turgencia de los parénquimas y en algodón hace que la caída del fruto sea más precoz e intensa (Rojas, 1972). Así, Weaver (1985) y Hill (1977), mencionan entre los efectos fisiológicos más importantes causados por el ABA:

- 1).- Actúa como inductor general del envejecimiento.
- 2).- Inhibe el crecimiento de muchas partes de las plantas.
- 3).- En algunas especies interactúa con el fotoperíodo y hace florecer a las plantas fuera del período de luz indicado.

IV.- MATERIAL Y METODOS

El aguamiel (savia elaborada) fué tomada de magueyes del tipo A. atrovirens Karw., localizados en el municipio de Axapusco al noreste del Estado de México.

Se realiza un primer filtrado con tela llamada "manta de cielo" y se recibe en un recipiente que ha sido previamente esterilizado, éste se mantiene en una cubeta con hielo para evitar la fermentación durante su traslado al laboratorio. Se vuelve a filtrar por medio del procedimiento antes descrito y se esteriliza en autoclave a 15 libras de presión durante 2 horas.

Después de este período de tiempo se le adicionó las cepas M.G.X.N. (microorganismos generadores de Xoconcutli); hecho lo anterior se mantiene en incubación a 30°C durante una semana, tiempo en el cual se encuentra ya formado el Xoconcutli.

Una vez obtenido el producto, se liofiliza a un 10% de su volumen inicial (la liofilización la realizó la casa Plasma y Biológicos S.A.).

Se prepararon soluciones de Xoconcutli liofilizado y AIA como estándar con la misma concentración para ambos: 0.1 mg./l., 1.0 mg./l., 10.0 mg./l., y 100.0 mg./l. (estas soluciones se utilizan en el ensayo biológico).

ENSAYO BIOLÓGICO.- Se realizó el ensayo denominado "prueba del segmento de avena", para lo cual se seleccionaron por tamaño y aspecto semillas de avena, Avena sativa var. SAIA (donadas por el Centro de Experimentación Agrícola "Valle de México"); posteriormente se esterilizaron durante 10 minutos en una solución al 1% de hipoclorito de sodio y después se lavaron con agua destilada durante una hora. Se hicieron germinar en vasos de unicel con arena en un cuarto oscuro con temperatura controlada a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, empleándose sólo luz roja débil.

Cuando los coleoptilos han alcanzado una longitud de 25-30 mm. se separan del resto de la planta; se les cortan los 4.0 mm. apicales y a partir de cada cilindro de coleoptilo se preparan los segmentos de 5.0 mm. de longitud cada uno.

Inmediatamente después de cortar los segmentos, se mantuvieron durante una hora aproximadamente en agua destilada

(esto pondrá todos los segmentos en equilibrio y deslavará la auxina endógena que pueda estar presente), en esta forma también se obtiene un crecimiento limitado de los testigos.

Posteriormente se distribuyen al azar 20 segmentos en cada una de las cajas petri junto con 20 ml. de las diferentes soluciones a analizar.

Una vez realizado lo anterior, se mantienen en incubación (en el cuarto oscuro) durante 48 horas a $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Al término de este período se mide el crecimiento de cada uno de los segmentos (Devlin, 1970; Mitchell y Livingston, 1984). (ver Figuras 6 a 12).



Figura 6. Semillas de A. sativa var. SAIA.

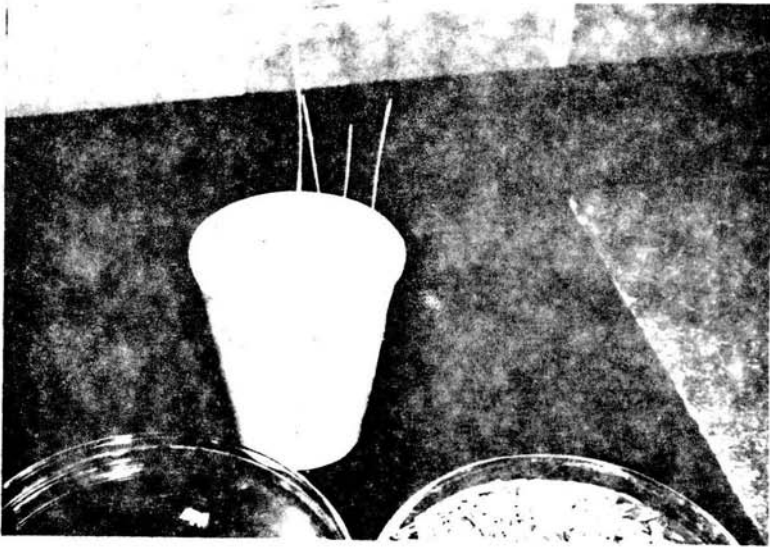


Figura 7. Plántulas de avena y segmentos de coleoptilo recién cortados.



Figura 8. Segmentos de coleoptilo de avena en las diferentes soluciones a analizar.

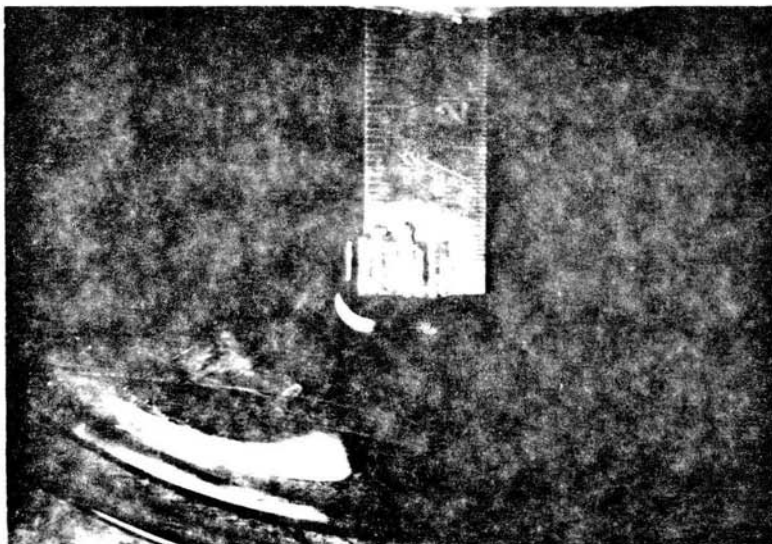


Figura 9. Crecimiento de los segmentos de coleoptilo de avena en testigo.

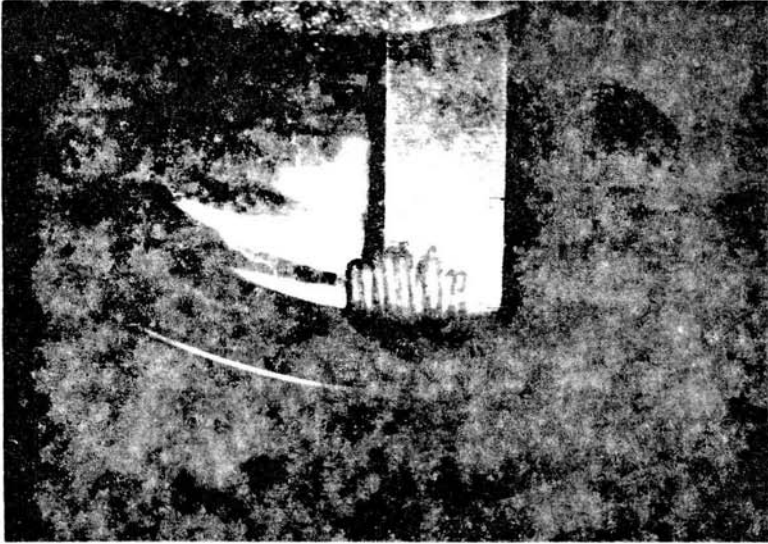


Figura 10. Crecimiento de los segmentos de coleoptilo de avena en Xoconcutli.



Figura 11. Crecimiento de los segmentos de coleoptilo de avena en AIA puro.

V.- RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos (ver cuadro No. 1); podemos decir que existe una probabilidad muy alta de que se encuentre presente al AIA en Xoconcutli, basándonos también en las curvas de crecimiento obtenidas en el bioensayo el cual es específico para detectar auxinas. En estas curvas el Xoconcutli y el AIA presentan un comportamiento similar (ver Figura No. 12), lo cual concuerda de manera aproximada con las obtenidas en trabajos realizados con AIA, por ejemplo los de Leopold y Thimann (1949) y Devlin (1970); vemos también que los valores para Xoconcutli son más bajos con respecto al AIA puro, pero pensamos que ello se debe a la interacción que pueda tener con otras hormonas, de manera particular con la zeatina que es una citocinina, la cual fué reportada en aguamiel por Martínez y Jasso (1983); y también en Xoconcutli a través de su espectro ultravioleta, ya que las citocininas absorben en dos puntos máximos correspondientes a 205-220 nm. y 260-280 nm. (ver apéndices I y II respectivamente). Además de basarnos en lo mencionado por Hill (1977), en que el aumento de longitud de los coleoptilos de avena provocado por ambas hormonas conjuntamente es

menor que el provocado por el AIA puro; tampoco debe descartarse la posibilidad de que se encuentren presentes algunas giberelinas y también inhibidores del crecimiento vegetal como el ABA (Rojas, 1972).

También en vista de que a través del espectro ultravioleta no pudimos detectar la presencia de AIA, pero sí de una citocinina; se recurrió al ensayo biológico por ser bastante sensible a cantidades mucho muy pequeñas de hormona y es muy probable que la citocinina presente en Xoconcutli se encuentre en mayor concentración que el AIA y por este motivo el espectro obtenido es de una citocinina; esto va de acuerdo al análisis del fenómeno del brote del verticilio floral hecho por Martínez y Jasso (1983) en el cual se puede identificar la interacción de varias hormonas a través de todo el fenómeno. Primeramente, el desarrollo de un nuevo órgano es un efecto provocado por citocininas. El alargamiento y la división celular aceleradas son respuestas a auxinas, giberelinas y citocininas; sin embargo, no se puede pensar en un predominio de las primeras, ya que se tendría una respuesta fototrópica que se observaría por un curvamiento del verticilio. La elongación sugiere la presencia de giberelinas pero no en forma predominante ya que el verticilio se observaría grueso, además de que

estas hormonas no participan en la diferenciación celular terminal, lo que es característico de citocininas, de las que se puede pensar que estén predominando en este fenómeno.

Por último es conveniente presentar los espectros ultravioleta de los grupos funcionales del AIA (indol) y de las citocininas (purina), esto con el fin de poder observar que las regiones de absorción de estos grupos concuerdan con las de las hormonas antes mencionadas, dándonos esto también la seguridad de que se encuentren el AIA y la zeatina en el Xoconcutli. (ver apéndices V y VI respectivamente).

CUADRO No. 1. ANALISIS DE VARIANZA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL ENSAYO BIOLOGICO

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD (G.L.)	SUMA DE CUADRADOS (SC)	CUADRADO MEDIO (CM)	F OBSERVADA	F-REQUERIDA
Tratamiento	3	0.879125	0.2830416	22.031712**	4.04
Residual	76	1.010875	0.0133009		
Total	79	1.890000			

Coefficiente de Variación (C.V.) = 9.63%

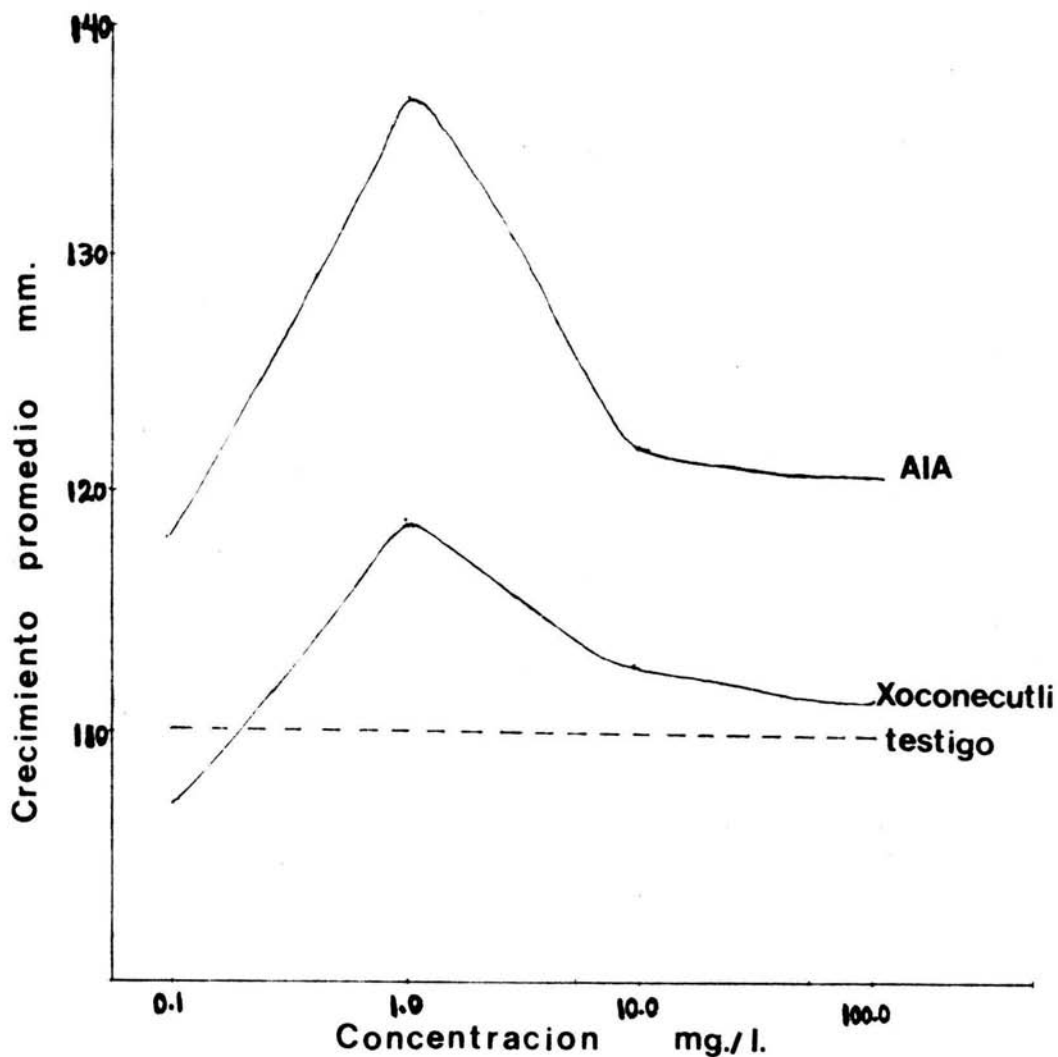
** Altamente significativo a $\alpha < 0.01$

PRUEBA DE DUNCAN

XOCONECUTLI: Significativa a $\alpha < 0.05$

AIA : Altamente significativa a $\alpha < 0.01$

FIGURA No.12 EFECTO DE LA CONCENTRACION DE AIA Y XOCONECUTLI SOBRE EL CRECIMIENTO EN COLEOPTILO DE AVENA



VI.- CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el trabajo nos permiten concluir lo siguiente:

El ensayo biológico utilizado fué el adecuado, ya que a través de él se logró detectar el factor de crecimiento vegetal buscado (AIA), pues se obtuvo respuesta en cuanto a crecimiento (elongación) similar a lo reportado en trabajos anteriores ya mencionados (ver Fig. 12). Y así poder afirmar a la vez que el Xoconcutli tiene dentro de sus componentes orgánicos, hormonas del crecimiento vegetal, debido a que está elaborado a base de aguamiel (savia elaborada) del maguey, que como toda planta superior requiere para su crecimiento de hormonas vegetales tales como las auxinas, citocininas, giberelinas, etc.

Por último queda abierta la posibilidad para que en investigaciones futuras se realice el aislamiento y la identificación química a partir del Xoconcutli, del factor de crecimiento vegetal detectado.

VII.- BIBLIOGRAFIA

- Baldev, B. y Lang, A. 1965. Control of flower formation by growth retardants and gibberellin in Samolus parviflorus, a long-day plant. Am. J. Bot. 52: 408-417.
- Carrillo, C.G. y López, M. C. 1977. Investigación sobre nuevas fuentes de productos naturales con actividad hormonal en vegetales. Avances en la enseñanza y la investigación de los años 1976-1977. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Méx.
- Devlin, M. R. 1970. Fisiología Vegetal. Omega, Barcelona.
- Domínguez, J. L. 1976. El efecto del ácido indol acético sobre el metabolismo del ácido ribonucléico polisomal citoplásmico en coleoptilo de trigo. Tesis de Maestría. Facultad de Química. UNAM. México.
- Galston, A. W. y Davies, P.J. 1970. Control mechanisms on plant development. Foundations of Developmental Biology Series. New Jersey. pp. 184.

- Goldsmith, M. H. 1969. Transport of plant growth regulators. Physiology on plant growth and development. Mc. Graw Hill Po. Co. pp. 127-162.
- González, R. H. 1978. Estudio del efecto del aguamiel en el proceso de la diferenciación de diversos cultivos. Avances en la enseñanza y la investigación de los años 1977-1978. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Méx.
- Hecht, S. M. 1969. Isolation of a cytokinin ribonucleoside from RNA_t-hydrolysates, Science. 166: 1272-1274.
- Hill, T. A. 1977. Hormonas reguladoras del crecimiento vegetal. Omega, Barcelona, pp. 74.
- Hurtado, M. D. V. y Merino, M. E. 1987. Cultivo de tejidos vegetales. Trillas, México. pp. 232.
- Jacobs, W. P. 1950. Auxin-transport in the hypocotyl of Phaseolus vulgaris L. Am. J. Bot. 37: 248-254.

- Jones, R. L. y Phillips, I. D. J. 1966. Organs of gibberellin synthesis in light-grown sunflower plants. *Plant. Physiol.* 41: 1381-1386.
- Katsumi, M. 1964. Growth response of the d-5 and an-1 mutants of maize to some kaurene derivatives. *Science.* 144: 849-850.
- Larsen, P. 1944. 3-indolacetaldehyde as a growth hormone in higher plants. *Dansk. Bot. Arkiv.* 11: 11-132.
- Leopold, A. C. y Kriedeman, E. P. 1975. *Plant growth and development.* Mc. Graw Hill Book Co. N. Y.
- Leopold, A.C. y Thimann, K. V. 1949. The effect of auxin on flower initiation. *Am. J. Bot.* 36: 342-347.
- Letham, D. S. 1967. Chemistry and Physiology of kinetin-like compounds. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 18: 349-364.

López, M. C. y Carrillo, G. 1978. Estudio comparativo sobre el desarrollo in vitro de órganos y tejidos vegetales de Phaseolus vulgaris y Lycopersicum esculentum en medio de cultivo suplementado con aguamiel y agua de coco. Avances en la enseñanza y la investigación de los años 1977-1978. Colegio de Postgraduados. Chapingo, Méx.

Loyola, M. E. 1956. La industria del pulque. Banco de México, S.A. México, D.F. pp. 1-19.

Martínez, N. C. y Jasso, M. D. 1983. Aislamiento e identificación de citocininas en aguamiel de Agave atrovirens Karw. Tesis UAEM. Méx.

Masuda, Y. y Kamisaka, S. 1969. Rapid stimulation of RNA biosynthesis by auxin. Plant. Cell. Physiol. 10: 79-86.

Miller, C. O. 1965. Evidence for the natural occurrence of zeatin and derivatives: compounds from maize which promote cell division. Proc. Natl. Acad. Sci. 54: 1052-1058.

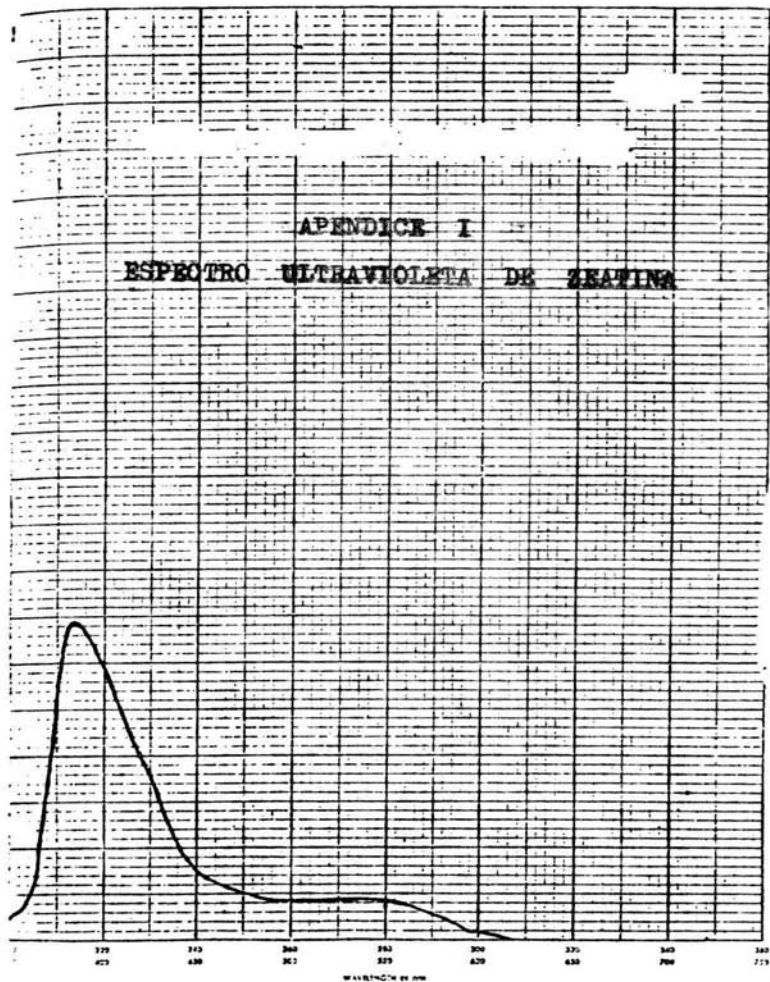
- Mitchell, W. J. y Livingston, A.G. 1984. Métodos para el estudio de hormonas vegetales y sustancias reguladoras del crecimiento. Trillas. México. pp. 232.
- Moore, T. C. 1979. Biochemistry and Physiology of Plant Hormones. Springer-Verlag. New York. pp. 274.
- Muir, R. M. y Iatican, B. p. 1968. Biochemistry and Physiology of plant growth substances. Runge Press Ottawa.
- Rojas, G.M. 1972. Fisiología Vegetal Aplicada. Mc. Graw Hill. México.
- Rojas, G. M. y Rovalo, M. M. 1984. Fisiología Vegetal Aplicada. Mc. Graw-Hill. México.
- Romo, V.A. 1985. Productos naturales de la flora mexicana. Limusa. México. pp. 220.
- Ruddat, M., Lang, A. y Mosetting, E. 1963. Gibberellin activity of steviol, a plant terpenoid. Naturwiss. 50: 23-25.

- Sánchez, E. y Castañeda, J. L. 1978. Inducción de callos de Agave atrovirens Karw. Revista de la Sociedad Química de México. XXII: (4) 196.
- Sánchez, E. y Yamada, Y. 1977. Estudio de las condiciones para el aislamiento de protoplastos de células de agave. Revista de la Sociedad Química de México. XXI: (4) 156.
- Sánchez, P. E. y Sánchez, S. E. 1984. Poder antiulcerogénico del Xoconcutli. Memorias del 51^o Congreso Médico Homeopático y 8^o Congreso Nacional de Medicina y Homeopatía. Monterrey, N. L. México.
- Sánchez, P. E., Ulloa, M. y Herrera, T. 1982. Identificación de Saccharomyces cerevisiae en el mosto del que se destila el mezcal de Oaxaca, México. Bol. Soc. Mex. Mic. 17: 25-32.
- Schneider, E.A., Gibson, R. A. y Wightman, F. 1972. Plant growth substances. Springer-Verlag. Berlin.

- Steward, F. C. 1956. The chemical and mode of acción of plant growth substances. Acad. Press. N.Y.
- Thimann, K. V. 1958. Auxin activity of some indole derivatives. Plant. Physiol. 33: 311-321.
- Ulloa, M. y Herrera, T. 1976. Estado actual del conocimiento sobre la microbiología de bebidas fermentadas indígenas de México: pozol, tesgüino, pulque, colonche y tepache. An. Inst. Biol. Universidad Nacional Autónoma de México. 47-53, ser. Botánica: 145-163.
- Van Oerberveek, T. 1966. Plant Hormones and regulators. Science. 152: 721-731.
- Wareing, P. F. y Phillips, I.D.J. 1973. The control of growth and differentiation in plants. Pergamon Press. N.Y.
- Weaver, R. J. 1985. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Trillas. México.

Weiss, C. y Vaadia, Y. 1965. Kinetin-like activity in root apices of sunflower plants. Life Scie. 4: 1323-1324.

Wightman, W. 1956. The chemistry and mode of acción of plant growth sbustances. Butterworths scientific publications. London.



APENDICE II

ESPECTRO ULTRAVIOLETA DE XOCONECUTLI



APENDICE III
COMPOSICION BIOQUIMICA DEL X: CONECUTLI
(Consistencia, textura y aspecto)

HUMEDAD g/100 g. - - - - -	-86.60
CENizas g/100 g. - - - - -	0.42
EXTRACTO ETHER O g/100 g. - - - - -	0.59
PROTEINAS (N x 6.25) g/100 g. - - - - -	0.63
OSAS (CARBOHIDRATOS) (POR DIF) g/100 g. - - - - -	12.76
REDUCTORES DIRECTOS% - - - - -	9.33
POLISACARIDOS PP. CON ALCOHOL, téc. INFRARROJOS DEXTRINAS - -	4.34
GLUCOPROTEINAS % - - - - -	0.70
INDICE DE REFRACCION (20° C) - - - - -	1.3558
PH. - - - - -	3.48
ACIDEZ (mg NaOH/g muestra) - - - - -	6.56
THIAMINA mg% - - - - -	0.0016
RIBOFLAVINA mg% - - - - -	0.075
NIACINA mg% - - - - -	0.30

APENDICE IV

ANALISIS FISICO Y QUIMICO DEL AGUAMIEL.

pH.....	6.3
Densidad a 20°C.....	1.023
Grados Brix	8.0 (mínimo)
Indice de refracción	1.335
Reductores totales (en glucosa)	7.370 g%
Reductores directores (en glucosa) ...	2.400 g%
Comas en glucosa	0.580 g%
Proteínas	1.080 g%
Sólidos totales	9.340 g%
Cenizas	0.280 g%
Calcio	10.0 mg%
Fósforo	20.0 mg%
Hierro	0.40 mg%
Acido ascórbico	11.3 mg%
Tiamina	0.10 mg%
Ritoflavina	0.01 mg%
Niacina	0.5 mg%

INDOLE

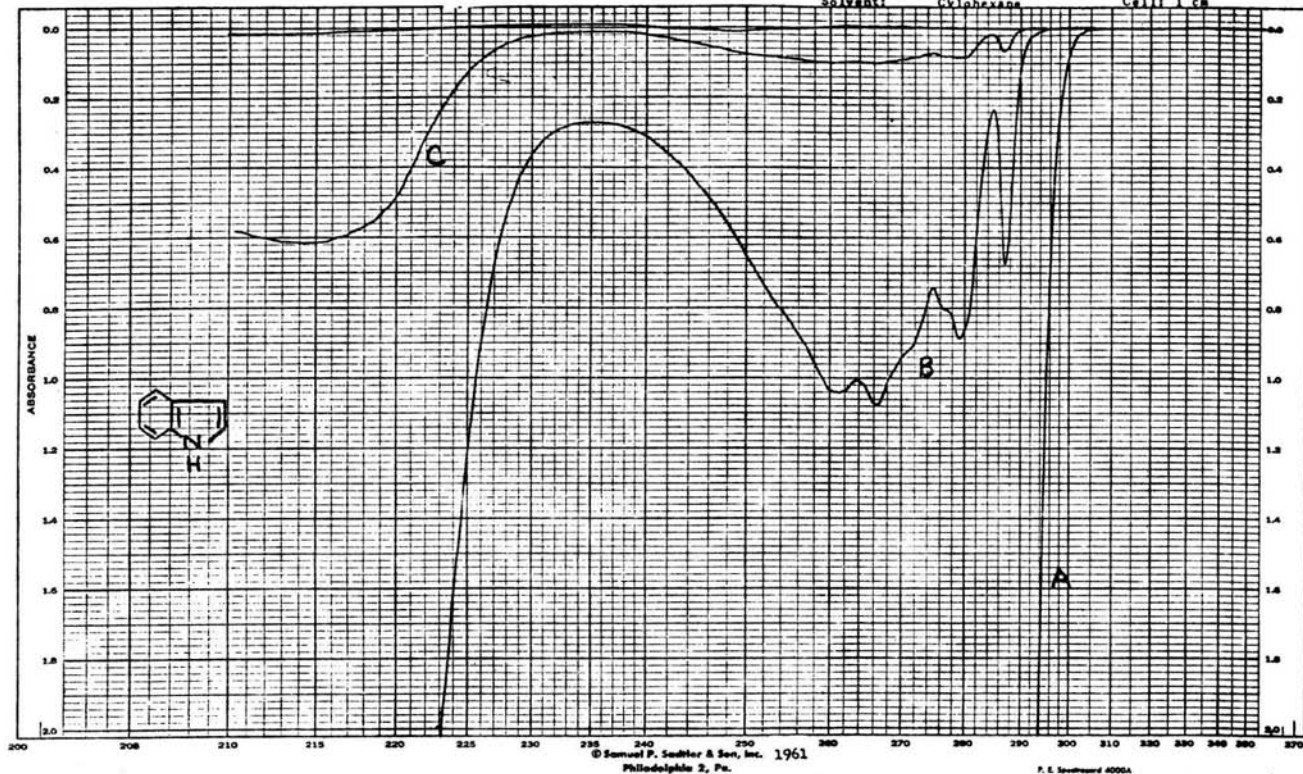
Mol. Form: C_8H_7N
Mol. Wt. 117.14 M.p. 52.5°C lit.
Source The Matheson Company

APPENDICE V

4586 

1269 UV

	A	B	C
Conc. g/l	1.89	0.0189	0.00189
Slit		4.3mm	
λ Max.		266.5m μ	
Solvent:	Cyclohexane		Cell 1 cm

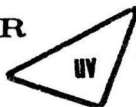


PURINE

4171 UV

SADTLER

©1962



IR 14700

Mol. Form. $C_5H_4N_4$
Mol. Wt. 120.12 M. P. 216-217°C
Source A. Bendich, Sloan-Kettering Institute

Conc. g/L A- .01
Slit .6mm
 λ_{Max} . 265m μ
Solvent Methanol
Cell 1 cm

APENDICE VI

