

Intervención del sistema ascórbico oxidasa en el crecimiento del coleóptilo de la avena

LUIS RECALDE MARTINEZ Y RAFAEL GARCIA VILLANOVA

(Continuación)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El crecimiento alcanzado por secciones de coleóptilos flotando en agua después de un determinado tiempo, depende únicamente de los materiales presentes en las células, por ello en lo sucesivo le distinguiremos con el nombre de crecimiento endógeno.

Al ensayar la acción estimulante de diferentes sustancias, sobre el crecimiento de las secciones, tomaremos siempre como patrón el crecimiento endógeno de éstas.

Como resultó prácticamente imposible realizar experiencias sucesivas en secciones de crecimiento endógeno constante, emplearemos para medir su variabilidad un índice que representa la sensibilidad (o potencia de crecimiento) de las secciones empleadas en cada caso. Tal índice es el mismo crecimiento endógeno pero expresado en porcentajes del tamaño inicial de la sección (5 mm.).

Cada una de las experiencias consignadas a continuación, fue realizada en diferente día.

a) *Efecto del ácido indolacético, del ácido ascórbico y de ambos a la vez sobre el crecimiento endógeno del coleóptilo de la avena.*—Ensayamos tres concentraciones diferentes de ácido indolacético con los resultados que se indican en la tabla I_g y II_g.

La concentración óptima resultó ser 0,1 Mg./l. de ácido indola-

cético. La bibliografía nos muestra, sin embargo, que la mayoría de los autores que han empleado en sus experiencias coleóptilos o tallos, han conseguido el máximo crecimiento con concentraciones que oscilan entre 1 y 10 Mg./L. Esta diferencia se debe, como veremos más adelante, aunque, en nuestro caso, el crecimiento se encuentra limitado con la cantidad de hidratos de carbono presentes en el coleóptilo.

Como podemos observar en la tabla Is, la respuesta al ácido indolacético crece al aumentar la sensibilidad del coleóptilo. Análogo resultado obtuvo BENTLEY (1950) ⁴⁷ al estudiar la influencia que el tamaño del coleóptilo tenía sobre la sensibilidad de las secciones frente a diferentes concentraciones de ácido indolacético.

La misma correlación, aunque menos intensa, existe con la respuesta del ácido ascórbico (tabla IIs); en cambio, no parece que la haya con la respuesta al ácido ascórbico y al ácido indolacético juntos (tabla IIIs).

En las tablas Ig y IIg se puede comprobar que el ácido ascórbico tiene una clara acción estimulante sobre el crecimiento endógeno, siendo la concentración que provoca el máximo la de 50 mg./L, es decir, 500 veces mayor que la concentración óptima del ácido indolacético.

Para ensayar la posible interacción entre el ácido indolacético y el ácido ascórbico, se realizaron tres tipos de experiencias; el primero comparando el efecto de concentraciones óptimas de ambas sustancias, por separado y juntas; el segundo, empleando la concentración óptima de ácido ascórbico y variando la de ácido indolacético; y el tercero y último manteniendo constante la concentración de ácido indolacético y variando la de ascórbico (tablas Ig y IIg).

Los resultados nos permiten afirmar que cuando se emplean concentraciones óptimas, los efectos son aditivos o casi aditivos, no existiendo interacción entre el ácido ascórbico y el ácido indolacético (tablas Ig y IIg).

Al considerar los efectos de varias concentraciones de ácido indolacético junto a la concentración óptima de ácido ascórbico (tablas Ig y IIg), se llega a una doble conclusión: Primero, que el efecto de la concentración óptima del ácido indolacético «sobre agua» es relativamente más intenso que «sobre ácido ascórbico»; y segundo, que la diferencia entre el efecto de la concentración óptima (0,1 mg./L) y la subóptima (1 mg. l.) de ácido indolacético es también mayor.

Efecto de la concentración de ácido indolacético.

Concentración (mg./L)	0,1	1,0
Referido al crecimiento sobre el agua = 100	71%	56%
Referido al crecimiento sobre ácido ascórbico (50 mg./L) = 100	57%	35%

La concentración óptima del ácido indolacético, por otra parte, sigue siendo la misma (0,1 mg./L).

Exactamente a las mismas conclusiones llegamos al examinar el efecto de varias concentraciones de ácido ascórbico junto a la concentración óptima del ácido indolacético (tablas Ig y IIg).

Efecto de la concentración del ácido ascórbico.

Concentración	50	100
Referido al crecimiento sobre agua = 100	25%	-19%
Referido al crecimiento sobre ácido indolacético (1,0mg./l) = 100	12%	-6%

Por último es interesante señalar que la concentración de 100 mgs./L de ácido ascórbico que es inhibidora sobre el crecimiento endógeno se convierte en estimulante cuando actúa juntamente con 0,1 mg./L de ácido indolacético; y que la concentración de 50 mgs./L de ácido ascórbico que es óptima sobre el crecimiento endógeno o sobre el estimulado con 1 mg./L de dicha sustancia. Todo lo cual sugiere que la concentración óptima de ácido ascórbico varía en función de la cantidad de ácido indolacético presente (tabla Ig y IIg). Esta sugerencia ha sido confirmada posteriormente por BLESÁ. (Comunicación personal sin publicar).

El crecimiento de las secciones de coleóptilo, individualmente considerado, es variable. Esta variabilidad responde a diversas causas que es posible analizar en las experiencias que estamos considerando. En primer lugar hay una variabilidad endógena que se manifiesta por diferencias de tamaño, aun en secciones que crecen en una misma «caja Petri», que evidentemente están sometidas a las mismas condiciones externas (medio de cultivo, tratamiento, temperatura, etc.). La variabilidad endógena es posible disminuir-

la por una selección cuidadosa de las semillas, y posteriormente de los coleóptilos empleados, pero no anularla, porque según demostró LARSEN (1948) ⁴⁹ puede ser debida a factores genéticos.

En la tabla IIIg se indican las cifras obtenidas midiendo la variabilidad endógena como «error probable» de la medida y como «coeficiente de variabilidad». Se observa que en este último valor disminuye, en general, el ser estimulado el crecimiento, bien por la acción del ácido indolacético, bien por la acción del ácido ascórbico, bien por la de ambos; demostrando con ello que, en parte, la variabilidad endógena se debe al diferente contenido, de las secciones, en ácido indolacético y ácido ascórbico.

Ademas existe otro tipo de variabilidad originado por la diferente sensibilidad de los coleóptilos utilizados en sucesivas ocasiones, y por tanto, en días y experiencias diferentes; la cual puede medirse en virtud de la variación de los crecimientos medios producidos por el mismo tratamiento.

TABLA I s

Crecimiento (expresado en porcentaje del tamaño inicial) de secciones de 5 mm. de coleóptilo de avena, flotando durante 24 horas en 20 c. c. de solución de ácido indolacético.

Exp.	Sol. AIA (mg/L) > A A >	0 0	0,01 0	0,1 0	1,0 0
14		52		106	
15 y 18		56		110	
9 y 7		60		113	
3		62	78	118	98
13		68		118	
1		72	90	124	118
2		80	102	134	125

Coefficiente de correlación 0,974

TABLA II s

Crecimiento (expresado en porcentaje del tamaño inicial) de secciones de 5 mm. de coleóptilo de avena, flotando durante 24 horas en 20 c. c. de solución de ácido ascórbico.

Exp	Sol. AIA (mg/l) • A A •	0 0	0 10	0 50	0 100
10 y 11		54		74	
8		56		76	
5, 7 y 6		60	66	83	50
4		62	66	76	52
6		66	78	82	54
12		70		89	

Coefficiente de correlación 0,808

TABLA III s

Crecimiento (expresado en porcentaje del tamaño inicial) de secciones de 5 mm. de coleóptilo de avena, flotando durante 24 horas en 20 c. c. de solución de ácido ascórbico y ácido indolacético.

Exp.	Sol. AIA (mg/l) • A A •	0 0	0,1 50	0,1 100	1,0 50
13		52	134	92	
10 y 11		54	118		100
8 y 14		56	126	104	
7 y 9		60	128		
15		68	128	116	
12		70	130		118

Coefficiente de correlación 0,034

TABLA I g

Crecimiento medio (en mm.) de secciones de 5 mm. de coleóptilo de avena flotando durante 24 horas en 20 c. c. de solución de ácido ascórbico, ácido indolacético o de ambos.

Exp	Sol. AIA (mg/l) • A A »	0 0	0 10	0 50	0 100	0,01 0	0,1 0	0,1 50	0,1 100	1,0 0	1,0 50
1		3,8				4,5	6,2			5,9	
2		4,0				5,1	6,7			6,3	
3		3,1				3,8	5,9			4,8	
4		3,1	3,3	3,8	2,6						
5		3,0	3,3	4,2	2,5						
6		3,3	3,9	4,1	2,7						
7		3,0		4,1			5,6	6,5			
8		2,8		3,8			5,5	6,6			
9		3,0		4,2			5,7	6,3			
10		2,7		3,4				5,6			4,8
11		2,7		4,0				6,3			5,2
12		3,5		4,5				6,9			5,9
13		2,6					6,3	6,7	4,6		
14		2,8					5,5	6,0	5,2		
15		2,4					5,9	6,4	5,8		

Media	3,12	3,5	4,0	2,6	4,5	5,8	6,4	5,2	5,4	5,3
Error probable	0,41	1,0	0,36	1,0	0,74	0,44	0,5	0,83	2,4	0,54
Coef. de Variab.	13,5	29,1	9,0	38,5	16,9	7,6	7,9	16,0	4,4	10,2

TABLA II g

Crecimiento medio (en porcentaje de los controles) de secciones de 5 mm. de coleóptilo de avena flotando durante 24 horas en 20 c. c. de solución de ácido ascórbico ácido indolacético o de ambos.

Exp.	Sol. AIA (mg/L) • A A »	0 0	0 10	0 50	0 100	1,01 0	0,1 0	0,1 50	0,1 100	1,0 0	1,0 50
1		100				118	163			155	
2		100				127	167			155	
3		100				122	190			155	
4		100	110	140	83						
5		100	106	122	84						
6		100	117	123	85						
7		100		136			196	235			
8		100		136			187	217			
9		100		140			190	210			
10		100		126				207			
11		100		148				233			
12		100		128				197			
13		100						257	177		178
14		100						214	186		192
15		100						188	170		168

Media	100	111	133	84	122	174	217	177	155	179
-------	-----	-----	-----	----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

TABLE IIIg

Variabilidad entre secciones de coleóptilos crecidos al mismo tiempo y en la misma solución; como error probable (del crecimiento medio) en 0,01 mm.

Exp.	Sol. AIA (mg/L) > A A >	0 0	0 10	0 50	0 100	0,01 0	0,1 0	0,1 50	0,1 100	1,0 0	1,0 50
1		7				10	9			11	
2		8				8	8			12	
3		7				9	10			8	
4		8	7	10	9						
5		7	7	8	9						
6		7	7	7	9						
7		10		11			11	12			
8		10		10			11	12			
6		11		12			14	15			
10		6		7				12			8
11		11		7				9			9
12		8		11				9			13
13		7				6	7	9			
14		8				10	11	11			
15		9				8	7	8			

Error probable (medio) 8,3 7,0 9,2 9,0 9,0 5,7 10,4 9,3 10,3 10,0

ld. expresado en

% de la media 2,6 2,0 2,3 3,5 2,0 1,7 1,6 1,6 1,9 1,9

b) *Efecto del ácido indolacético, del ácido ascórbico, y de ambos juntos sobre el crecimiento (estimulado con glucosa) del coleóptilo de la avena.*

Diferentes investigadores afirman que el crecimiento de las secciones de coleóptilo aumenta en presencia de ácido indolecético por acción de varios azúcares. La sacarosa, por ejemplo, incrementa el crecimiento, según BONNER (1949) ⁴¹, hasta una concentración óptica del 2 al 3%; concentración que según SCHNEIDER (1938) ⁴² y THIMANN y SCHNEIDER (1938) ⁴³ es algo inferior (1%). Para BEHTLEY (1950) ⁴⁷ la respuesta de la sacarosa es extraordinariamente variable, siendo aconsejable sustituirla por la glucosa.

En nuestro caso se experimentaron, al mismo tiempo que se ensayaba el de la glucosa sola, los efectos de dos concentraciones de ácido indolacético, la de 0,1 (mg./L) y de 1,0 (mg./L), que se habían comportado como óptima y subóptima, respectivamente, sobre el crecimiento endógeno (tablas IVg y VIg).

La glucosa tuvo un pequeñísimo efecto estimulante, presentando

valores sólo muy ligeramente superiores a los del crecimiento endógeno, sin embargo, modificó muy claramente la respuesta del ácido indolacético, cuya concentración óptima en su presencia la de 1,0 (mg./L) en vez de 0,1 (mg./L). Lo que vino a demostrar como anteriormente se sugirió, que la glucosa no limita el crecimiento endógeno, pero sí la respuesta al ácido indolacético de las secciones que crecen en agua. Por otra parte, el efecto relativo del ácido indolacético se incrementó considerablemente en presencia de glucosa.

Efecto de la concentración del ácido indolacético.

Concentración (mg./L)	0,1	1,0
Referido al crecimiento sobre agua = 100	71	56
Referido al crecimiento sobre glucosa = 100	109	135

De igual manera, la glucosa modificó el efecto relativo del ácido ascórbico, que aumentó considerablemente (Tabla IVg y VIg).

Efecto de la concentración de ácido ascórbico

Concentración (mg./L)	25	50	100
Referido al crecimiento sobre agua = 100		25	-19
Referido al crecimiento sobre glucosa = 100	50	69	

En las tablas IVg y VIg puede observarse que, lo mismo que en el crecimiento endógeno, aumentó, en el estimulado con la glucosa, la respuesta al ácido indolacético y al ácido ascórbico al crecer la sensibilidad de las secciones.

Podemos analizar los efectos del ácido indolacético y del ácido ascórbico y de sus interacciones, resumiendo los resultados en las tablas IVg y VIg de la manera siguiente:

Efectos de las concentraciones de ácido indolacético (AIA) y ácido ascórbico (AA) en presencia de glucosa (crecimiento en mm.)

AIA

AA	mg./L	0	25	50
	0	2,6	3,9	4,4
	0,1	5,7	8,1	7,0
	1,0	6,5	7,2	6,9

La concentración óptima para el crecimiento de las secciones es de:

a) 50 (mg./L) de ácido ascórbico si el crecimiento se efectúa en presencia de glucosa; y de 25 (mg./L) si, además está presente el ácido ascórbico.

b) 1,0 (mg./L) de ácido indolacético si el crecimiento se efectúa en presencia de glucosa; y de 0,1 (mg./L) si, además, está presente el ácido ascórbico.

c) 25 (mg./L) de ácido ascórbico y 0,1 Mg./L) de ácido indolacético cuando ambas sustancias actúan juntas en presencia de glucosa.

Vemos pues, que, en presencia de glucosa, hay una clara interacción entre el ácido ascórbico y el ácido indolacético, que sugiere la intervención de dichas sustancias en un mismo proceso primario.

El efecto simple del ácido ascórbico disminuye al aumentar la concentración del ácido indolacético, tendiendo a anularse.

Efecto simple del ácido ascorbico referido al crecimiento sobre glucosa y ácido indolacético = 100)

AIA

AA	(mg L)	0	25	50
	0	0	48	67
	0,1	0	46	26
	1,0	0	9	3

De igual forma, el efecto simple del ácido indolacético disminuye al aumentar la concentración de ácido ascórbico, tendiendo a un valor mínimo.

Efecto simple del ácido indolacético (referido al crecimiento sobre GLUCOSA y ácido ascórbico = 100).

AIA

AA	(mg./L)	0	25	50
	0	0	0	0
	0,1	116	108	61
	1,0	147	57	58

La variabilidad «endógena» y la debida a la sensibilidad de las secciones queda expresada en las tablas IVg y Vg de igual manera que anteriormente se hizo.

TABLA IVg

Crecimiento medio (en mm.) de secciones de 5 mm de coleóptilo de avena flotando durante 24 horas en 20 c. c. de solución de ácido ascórbico, ácido indolacético o de ambos.

EXP.	AIA (mg./L)	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1	1,0	1,0	1,0	
	AA (mg./L)	0	0	25	50	0	25	50	0	25	50
	Glucosa (gr./L)	0	20	20	20	20	20	20	20	20	20
		2,7	2,8			6,1			6,7		
		2,6	2,8			5,7			6,4		
		2,1	2,2			4,7			5,5		
		2,0				4,4	6,4	5,3			
		2,6				5,9	7,9	6,2			
		3,3				7,7	10,1	9,5			
		2,6							6,9	7,3	6,9
		3,0							7,6	7,8	7,6
		2,4							6,2	6,6	6,1
		2,5		3,7	4,2						
		2,6		3,8	4,4						
		2,4		4,2	4,5						

Media	2,6	2,6	3,9	4,4	5,7	8,1	7,0	6,5	7,2	6,9
Error probable	0,10	0,24	0,62	0,03	0,43	1,31	1,56	0,26	0,42	0,97
Variabilidad	8,8	9,2	15,9	6,8	7,5	16,1	22,2	4,0	5,8	14,0

TABLA Vg

Variabilidad entre secciones de coleóptilos crecidos al mismo tiempo y en la misma solución; como error probable (del crecimiento media) en 0,01 mm.

EXP.	Sol.	AIA (mg/L.)	0	0	0	0	0,1	0,1	0,1	1,0	1,0	1,0
		AA (mg/L.)	0	0	25	50	0	25	50	0	25	50
		glucosa (g/L.)	0	20	20	20	20	20	20	20	20	20
			7	6			10			10		
			7	7			11			7		
			7	10			9			10		
			8				9	8	9			
			6				12	13	9			
			10				11	11	11			
			9							11	13	13
			8							14	12	15
			12							12	12	11
			12		11	12						
			11		12	12						
			11		12	9						

E. P (medio 9 7,6 7,7 11 6,0 11 10 10,1 12,5 13,0

E. P. expresado en
% de la media 3,4 2,9 2,0 2,5 0,95 1,35 1,42 1,55 1,70 1,88

TABLA VIg

Crecimiento medio (en porcentaje de los controles) de secciones de 5 mm. de coleóptilo de avena, flotando durante 24 horas en solución de (glucosa) ácido ascórbico, ácido indolacético o ambos.

Exp.	AIA (mg/L.)	0	0	0	0	0,1	0,1	0,1	1,0	1,0	1,0
		AA (mg/L.)	0	0	25	50	0	25	50	0	25
	glucosa (g/L.)	0	20	20	20	20	20	20	20	20	20
		100	104			226			248		
		100	106			217			243		
		100	106			226			264		
		100				220	320	265			
		100				224	300	236			
		100				231	303	285	262	277	262
		100							251	257	251
		100							202	277	256
		100		148	168						
		100	144	167							
		100	151	162							

Media 100 148 166 224 307 262 261 270 256

CONCLUSIONES

1.^a Para el crecimiento endógeno del coleóptilo de la avena, la concentración óptima del ácido indolacético es la de 0,1 mg./L.

2.^a La respuesta al ácido indolacético crece al aumentar la sensibilidad del coleóptilo, existiendo entre ambas una intensa correlación (Coef. Corr. = 0,974).

3.^a El ácido ascórbico tiene, a varias concentraciones, una clara acción estimulante sobre el crecimiento endógeno del coleóptilo, siendo la concentración óptima 50 mg./L.

4.^a Existe la correlación entre la respuesta del ácido ascórbico y la sensibilidad del coleóptilo, aunque más débil que en el caso del ácido indolacético. (Coef. corr. = 0,808).

5.^a Las concentraciones óptimas del ácido indolacético y ácido ascórbico son (para el crecimiento del coleóptilo sobre glucosa) de 1 (mg./L) y 25 (mg./L) respectivamente.

BIBLIOGRAFIA

1. SCHOFER. — *Plants and Vitamina* (1949).
2. VAN SATEN A. M. A. — *Proc. Kon. Akad. Wetensch., Amsterdam* 41, 513 (citado por Larsen P. 1955. *Growth Substances in higher Plants.* — Edit. Peach y Tracey. «*Modern Methods of Plan Analysis*» (1958).
3. RAADTS E. — *Über den einfluss der askorbinsäure auf die ausinaktivierung.* — *Planta* 36, 103 (1948).
4. AMLONG y NAUNDORF, G. — *Die Wuchs-hormone in der gärtnerischen Praxis.* — *Berlin* (1938).
5. CLARK W. G. — *Ascorbic acid in the avena coleoptile.* — *Botanical Gaz.*, 24, 70 (1937).
6. RIETSEMA, J. — *Modified cylinded test of high sensivity for growth substances.* — *Proc. Kon. Akad. Wetensch.*, 52, 1194 (1949-a) y *The influence of pH on the growth of avena coleoptile sections.* — *Proc. Kon. Akad. Wetensch., Amsterdam*, 52, 1039 (1949-b).
7. RUDRA, M. N. — *Ascorbic acid content of recently hasverted and legumes.* — *Nature*, 151, 641 (1943).
8. HUSZAC St. — *Über die funktion des peroxydase systems der pflanzen.* — *Z.Ph ysiol. Chem.*, 155, 201 (1937).
9. JAMES, W. O y CRAGG, J. M. — *Ascorbic acid system in early respiration.* — *New Phytol.*, 42, 28 (1943).

10. STOZ E., HARRER C. J., SCHULS M. D. y KING C. G. — Oxidation of ascorbic acid in presence of guinea-pig liver. — *J. Biol. Chem.* 122 407 (1938)
11. MEIKLEJOHN G. T. y STEWARD C. P. — Ascorbic acid oxidase from cucumber. — *Biochem. J.* 35, 755 (1941).
12. POWERS W. H., LEVIS S. y DAWSON C. R. — Inactivation of ascorbic acid oxidase. — *J. Gen. Physiol.*, 27, 167 (1944).
13. WAYGOOD E. R. — Physiological and biochemical studies in plant metabolism. II Respiratory enzymes in wheat.—*Can. J. Rrsearch (C)*, 28, 7 (1950).
14. SAFFORD H. A. — Intracellular localization of enzymes in pea seedlings. — *Physiol. Plantarum*, 4, 696 (1951).
15. NEWCOMB E. H. — Effect of auxin on ascorbic acid oxidase activity in tobacco cells. *Proc. Soc. Explot. Biol. Med.*, 76, 504 (1951).
16. MILLER I. H. JR. y BURRIS R. H. — Effect of plant growth substances upon oxidation of ascorbic and glioblic acids by cell-free enzymes from barley. — *Amer. J. of Bot.*, 38, 547 (1951).
17. CROOK E. M. y MORGAN E. J. — The reduction of dehydroascorbic in plants extracts. — *Biochem. J.*, 38, 10 (1944).
18. CROOK E. M. — The system dehydroascorbic acid glutathione. — *Biochem. J.*, 35, 226 (1941).
19. PETT L. B. — *Biochem. J.*, 30, 1228 (1936).
20. HOPKINS F. G. y MORGAN E. J. — Appearance of glutathione during early stages of the germination of seeds. — *Nature*, 152, 288 (1943).
21. KOHMAN E. F. y SANBORN N. H. — Dehydroascorbic acid reductase. — *Ind & Eng. Chem.*, 20, 185 (1937).
22. GANAPATHY C. V. — Reduction-oxidation systems in the latex of *Carica papaya*. — *Curr. Sci.*, 6, 451 (1938).
23. FIRKET M. I. y COMHAIRE. — Recherches experimentales sur la teneur en glutathion des poid an debut de la germination. — *Bull. Acad. Med. Bel.*, 9, 93 (C. A. 3951) (1929).
24. BERGER J. y AVERY G. S. JR.—Glutamic and isocitric acid dehydrogenases in the avena coleptile and the effects of auxins on these enzymes.— *Amer. J. of Bot.*, 31, 11 (1944).
25. ADLER E, EULER H. V., GUNTHER H. y PLASS M. — Isocitric dehydrogenase and glutamic acid synthesis in animal tissues. — *Bioch. J.*, 33, 1628 (1939).
26. EULER H. V., ADLER E. GUNTHER H. y ELLIOT L. — Isocitric acid dehydrogenase and glutamic synthesis in higher plants and yeasts. — *Enzymologia*, 6, 337 (1939).
27. OCHOA S. — Isocitric dehydrogenase and carbon dioxide fixation.— *J. Biol. Chem.*, 159, 243 (1945).
28. OCHOA S. — Biosynthesis of tricarboxylic acids by carbon dioxide fixation III Enzymic mechanism. — *J. Biol. Chem.*, 174, 133 (1945).
29. MAPSON L. W. y GODDARD D. D. — The reduction of glutathione by plant tissues. — *Biochem. J.*, 592, 49 (1951-a) y Reduction of glutathione by Coenzyme II. Glutathion reductasa in pea seeds. — *Nature*, 167, 975 (1951).

30. BERGER J. y AVERY G. S. — Action of synthetic auxins and inhibitors on dehydrogenases of avena coleoptile.—*Amer. J. of Bot.*, 30, 297 (1943-a) y *Dehydrogenases of the avena coleoptile.* — *Amer. J. of Bot.*, 30, 290 (1943-b).
31. VENNESLAND B., GOILLUB M. y SPECK J. F. — B-carboxylases of plants.— I. Some properties of oxalacetic carboxylase and its quantities assay. — *J. Biol. Chem.*, 178, 301 (1949-a).
32. VENNESLAND B. — B-carboxylases of plants. II. Distribution of exalacetic carboxylase in plants tissues. — *J. Biol. Chem.*, 178, 591 (1948-b).
33. CONN E., VENNESLAND B. y KRAEMER L. M. — Distrubution of a triphosphopyridine-nucleotide specific enzyme catalyzing the reversible oxidative decarboxylation of malic acid in higher plants. — *Arch. Biochem.*, 23, 179 (1949).
34. BONNER J. — The action of plant growth hormone. — *J. Gen. Physiol.*, 17, 63 (1933).
35. CONN E. y VENNESLAND B.—Reduction of glutathione by coenzyme II. Enzymatic reduction of glutathione by triphosphopyridina-nucleotide (Co-enzyme II). — *Nature*, 167, 976 (1951).
36. PRESTON R. D. y CLARK C. S. — Wall structure and growth. II Wall deposition in the avena coleoptile. — *Proc. Leeds Phil. Soc.*, 4, 201 (1944).
37. WENT F. W. — Die crklärung des phototropischen krümmungsvslaufs. — *Vec. Trav. Bot. Neerl.*, 25, 1 (1929).
38. SCHEER B. A. — Straight growth of avena coleoptile in relation to different concentrations of certain organic acids and their potassium salts.— *Amer. J. Bot.*, 24, 559 (1937).
39. WIENTRAUB R. L. — Assay of growth-promoting substances utilizing straight growth of the avena coleptile. — *Smithsonian Misc. Coll.*, 97, 1 (1938).
40. BONNER J. — Arsenate as a selective inhibitors in the growth substance action. — *Plant. Physiol.*, 25, 181 (1950-a) y *Plant Biochemistry.* — Academic Press Publ., New York (1950-b).
41. BONNER J. — Limiting factors and growth inhibitors in the growth of avena coleoptile. — *Amer. J. Bot.*, 36, 323 (1949).
42. SCHNEIDER C. L. — The interdependance of auxin and sugar for growth. — *Amer. J. Bot.*, 25, 258 (1938).
44. THIMANN K. V. y BONNER W. D. — Experiments on the growth and inhibition of isolated plant parts. I The action of iodo acetate and organic acids on the avena coleoptile. — *Amer. J. Bot.*, 35, 271 (1948).
45. POHL R. — *Planta* 36, 230 (citado por Burström H. 1951. — Mechanism of cell elongation (Plant growth substances. — *Edit. F. Skoog. Univ. Wisconsin Press*, pag. 43 (1948).
46. RIETSEMA J. — The influence of pH on the growth of avena coleoptile sections. — *Proc. Kon. Akad. Wetensch.*, Amsterdam, 52, 1039 (1949).
47. BENTLEY J. A. — An examination of a method of auxin assay using the growth of isolated sections of avena coleoptile in tets solutions. — *J. of Exp. Bot.*, 1, 201 (1950).
48. BENTLEY J. A. y HONSLEY. — Bio-assay of plant growth hormones.— *Physiol. Plantarum* 7, 405 (1954).

49. LARSEN C. M — Heredity variations in the sensivity of avena coleoptile to growth substance. — *Physiol. Plantarum*, I, 265 (1948).
50. BOYSEN JENSEN P. — Die Wuchsstofftheorie. — Jena. — Gustvl'isher (1935).
51. BOYSEN JENSEN P. — Growth hormones in plants. — New York. MacGraw-Hill (1936).
52. BOYSEN JENSEN P. — *Planta*, 31, 653 (citado por Larsen P. — 1955. Growth substances in higher plants — Modern methods of plant Analysis. Vol. III, pág. 565 (1941).
53. LARSEN P. — 3-indole acetaldehyde as a growth hormone in in-gher plants. — *Dansk. Bot. Archiv.*, II, 1 (1944).
54. WENT F. W. y THIMANN K. V. — Phytohormones. — New York. MacMillan (1937).