

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man on horseback, holding a staff and a book. Above him is a crown and a shield. The shield is supported by two lions. The shield is flanked by two columns. The entire scene is set against a background of a landscape with mountains. The Latin text "UNIVERSITAS CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS" is inscribed around the perimeter of the seal.

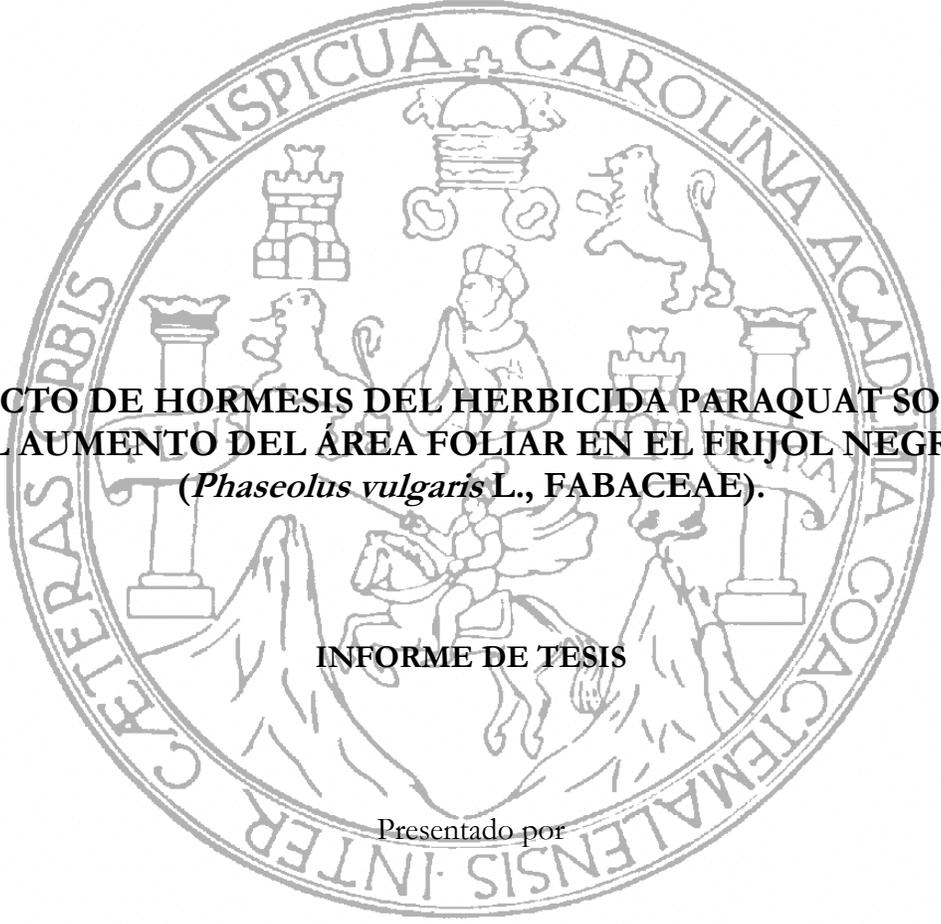
**EFFECTO DE HORMESIS DEL HERBICIDA PARAQUAT SOBRE  
EL AUMENTO DEL ÁREA FOLIAR EN EL FRIJOL NEGRO  
(*Phaseolus vulgaris* L., FABACEAE).**

Allan Estuardo Urbizo Herrera

Biólogo

Guatemala, Mayo de 2011

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a seated man, likely a saint or scholar, holding a book. Above him is a crown and a shield. The shield is supported by two lions. The entire scene is enclosed within a circular border containing Latin text: "UNIVERSITAS CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CÆTERAS PRÆBIS CONSPICUA".

**EFFECTO DE HORMESIS DEL HERBICIDA PARAQUAT SOBRE  
EL AUMENTO DEL ÁREA FOLIAR EN EL FRIJOL NEGRO  
(*Phaseolus vulgaris* L., FABACEAE).**

**INFORME DE TESIS**

Presentado por

**Allan Estuardo Urbizo Herrera**

Para optar al título de

**Biólogo**

Guatemala, Mayo de 2011

## **JUNTA DIRECTIVA**

Óscar Cóbar Pinto, Ph. D.

DECANO

Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.

SECRETARIO

Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.

VOCAL I

Licda. Liliana Vides de Urizar

VOCAL II

Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli

VOCAL III

Br. José Roy Morales Coronado

VOCAL IV

Br. Cecilia Liska de León

VOCAL V

## **ACTO QUE DEDICO**

A DIOS, TRINO Y UNO

por su bondad y misericordia infinita.

A MARÍA SIEMPRE VIRGEN

por ser el consuelo en mis aflicciones.

A MI SEÑOR PADRE  
SANTIAGO URBIZO

por ser el ejemplo de un hombre trabajador y honrado, e inculcarme esos valores con hechos.

A MI SEÑORA MADRE  
ANDREINA HERRERA

por velar y cuidar mi formación académica con esmero y dedicación.

A MI HERMANO  
BRYAN URBIZO

por ser mi amigo y compañero en la vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

A todas las personas que contribuyeron con la realización de este trabajo:

Al M.A. Carlos Salazar por compartir sus conocimientos en el área de fisiología vegetal y por creer en el proyecto desde el principio.

Al Dr. Edward Calabrese por su apoyo incondicional en la resolución de dudas concernientes al fenómeno hormético.

Al Dr. Rodrigo Gularte por su ayuda desinteresada y efectiva en la búsqueda y proporción de literatura científica no disponible para Guatemala.

Al Dr. Arnold Appleby y a la Dra. Nina Cedergreen por la donación de artículos científicos de su autoría, que fueron de gran utilidad para la comprensión del fenómeno hormético en plantas y su aplicación en la agricultura.

## ÍNDICE

1. Resumen.....	4
2. Introducción.....	6
3. Antecedentes	
3.1 Hormesis	
3.1.1. Definición.....	7
3.1.2. Historia.....	9
3.1.3. Efectos beneficiosos.....	11
3.1.4. Características cualitativas.....	12
3.1.5. Características cuantitativas.....	12
3.2. Plantas y Hormesis	
3.2.1. Herbicidas.....	14
4. Justificación.....	17
5. Objetivos.....	19
6. Hipótesis.....	20
7. Materiales y Métodos	
7.1. Universo.....	21
7.2. Materiales.....	21
7.3. Métodos	
7.3.1. Diseño experimental.....	24
7.3.2. Invernadero.....	24
7.3.3. Germinación.....	24
7.3.4. Siembra.....	25
7.3.5. Preparación de soluciones.....	25
7.3.6. Aplicación.....	26
7.3.7. Recolección de datos.....	27
7.3.8. Análisis de datos.....	28

8.	Resultados	
8.1	Tratamientos.....	29
8.2	Modelo de dosis-respuesta.....	29
9.	Discusión de Resultados	
9.1	Magnitud de hormesis.....	32
9.2	Implicaciones biológicas.....	34
9.3	Aplicaciones.....	36
9.4	Modelo predictivo.....	37
10.	Conclusiones.....	38
11.	Recomendaciones.....	40
12.	Referencias.....	41
13.	Anexos	
	Anexo 1: Tipos de curva de dosis-respuesta.....	49
	Anexo 2: Curva $\beta$ .....	50
	Anexo 3: Características cuantitativas de la curva $\beta$ .....	50
	Anexo 4: Nombre común y químico de herbicidas.....	51
	Anexo 5: Criterios de evaluación cuantitativa de hormesis.....	52
	Anexo 6: Categorías de evidencia hormética.....	52

## 1. RESUMEN

La hormesis es un fenómeno de dosis-respuesta caracterizado por una estimulación a dosis bajas e inhibición a dosis altas (Calabrese & Baldwin, 2002, p. 94). Se ha documentado en una amplia variedad de taxa y se debe a diversos agentes tóxicos, incluyendo herbicidas. Numerosas respuestas metabólicas y fisiológicas han sido estimuladas en plantas al ser expuestas a dosis bajas de herbicidas, incluyendo recientemente el mejoramiento del rendimiento agrícola (Cedergreen & Andresen, 2010, p. 1)

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de hormesis del herbicida Paraquat sobre el aumento del área foliar de *Phaseolus vulgaris* L. con el fin de esclarecer si su aplicación podría implementarse para el mejoramiento del cultivo. Para ello fue necesario determinar el Nivel de Efecto No Observado –NOEL– del herbicida para establecer las concentraciones subletales a aplicar. Posteriormente se midió el Índice de Área Foliar –IAF– de las plantas tratadas con dosis subletales del herbicida, a fin de observar variaciones en sus valores de respuesta.

Los resultados mostraron un efecto hormético real en el estudio al existir un estímulo estadísticamente significativo ( $p = 0.024$ ) en la respuesta documentada. La magnitud máxima de estimulación exhibió una consistencia cuantitativa del 12% sobre los valores del IAF en el grupo control, mostrando con ello la respuesta bifásica característica del fenómeno hormético.

Desde el punto de vista biológico, los resultados confirman el potencial del fenómeno de hormesis para el mejoramiento de la producción y calidad de la cosecha de *Phaseolus vulgaris* L., ya que el IAF se relaciona estrechamente con el rendimiento en los cultivos, por lo que el aumento evidenciado en este parámetro puede implicar un aumento del rendimiento en esta especie. Por ello, es necesaria la realización de mayor investigación

concerniente al fenómeno de hormesis, con el fin de implementar su uso en la producción de este cultivo en Guatemala.

## 2. INTRODUCCIÓN

La hormesis es un concepto biológico referente al fenómeno de dosis-respuesta que describe la estimulación de cualquier sistema biológico por dosis bajas de un agente bioactivo. Fue evidenciado por primera vez en el siglo XIX a partir de los trabajos del farmacólogo Hugo Schulz, quien observó que la aplicación de dosis subletales de algunos agentes químicos estimulaba el crecimiento y la respiración celular en levaduras. Actualmente, la evidencia proveniente de numerosos estudios ha demostrado que el fenómeno ocurre en una amplia variedad de taxa (*e.g.* bacterias, hongos, plantas y animales), como resultado de su exposición a un amplio rango de agentes tóxicos (*i.e.*, pesticidas, agentes quimioterapéuticos y radiación)(Rattan, 2004, p. 705).

Bajo este enfoque, en el campo de la agricultura se ha observado que los herbicidas –aplicados en dosis subletales– pueden estimular parámetros biológicos como la sobrevivencia y reproducción en cultivos, además de incrementar respuestas metabólicas y fisiológicas como: consumo de oxígeno, tasa fotosintética, regeneración de tejidos, respuesta inmunológica y germinación de semillas (Calabrese & Baldwin, 1997a, p. 554).

No obstante los estudios realizados, hoy por hoy permanecen grandes vacíos en la información sobre el efecto hormético de herbicidas en plantas, esto debido a una combinación de diversos factores, predominantemente relacionados con la aplicación de diseños experimentales no apropiados para la evaluación del fenómeno, junto con la falta de estudios de evaluación de riesgo toxicológico en plantas (Calabrese, 2008, p. 1461).

Por lo anteriormente expuesto, se estudió el efecto hormético del herbicida Paraquat sobre el aumento del área foliar en *Phaseolus vulgaris* L., con el fin de estimular este parámetro biológico e implementar los hallazgos en el mejoramiento de los cultivos. Para ello se estudió la variación del Índice de Área Foliar en las plantas expuestas a dosis subletales de herbicida al iniciar la etapa de floración en las plantas.

## ANTECEDENTES

### 3.1. Hormesis

La toxicología es el estudio cualitativo y cuantitativo de los efectos deletéreos ocasionados por agentes químicos y físicos sobre la estructura y función de los sistemas vivos. Paracelso –considerado como el padre de la toxicología– fue el primero en reconocer que la toxicidad de cualquier sustancia depende de la dosis con que se administre. En el siglo XVI afirmó: “Todas las sustancias son tóxicas y ninguna es tóxica; es la dosis la que determina la toxicidad (Duke, Cedergreen, Velini & Belz, 2006, p. 29).” Con este enunciado, Paracelso consideró la aparente seguridad de las sustancias tóxicas administradas en dosis bajas.

En la actualidad existe evidencia sobre la estimulación que pueden provocar algunas sustancias tóxicas administradas en dosis subletales en distintos organismos como: bacterias (Ingram & Fisher, 1973*a*, p. 874, 1973*b*, p. 200), levaduras (Loefer, Bieberdorf & Weichlein, 1952, p. 242; Hessayon, 1953, p. 395), plantas y algas (Belz, Hurle & Duke, 2005, p. 173; Belz, Reinhard, Foxcroft, & Hurle, 2007, p. 237; Belz, 2008, p. 80; Cedergreen, Streibig & Splid, 2004, p. 314; Cedergreen, Ritz & Streibig, 2005, p. 3166; Cedergreen, Streibig, Kudsk, Mathiassen & Duke, 2007, p. 150; Pierik, Tholen, Poorter, Visser & Voeselek, 2006, p. 176) y animales (Sandifer & Hopkin, 1997, p. 125; Brown, Rundle, Hutchinson, Williams & Jones, 2003, p. 1; Coler, Coler, Felizardo & Watanabe, 2005, p. 617; Díaz, Calabrese & Blain, 2008, p. 727). Al fenómeno de estimulación a dosis bajas e inhibición a dosis altas se le conoce como hormesis (Stebbing, 1982, p. 215).

#### 3.1.1. *Definición*

Etimológicamente el término “hormesis” proviene de la palabra griega *horme* que significa impulso, que a su vez deriva del griego antiguo *hormaein* que significa estimular. Fue acuñado por Southam y Ehrlich (1943, p. 517) al sugerirlo para describir el efecto

estimulador de una sustancia antibiótica extraída de la corteza del Cedro Rojo (*Thuja plicata* L.) sobre el metabolismo de hongos lignícolas expuestos a dosis bajas del mismo.

La definición del concepto ha sido un tema ampliamente discutido en la literatura científica (Stebbing, 1982, p. 213; Calabrese & Baldwin, 1997*a*, p. 545, 1997*b*, p. 546; Forbes, 2000, p. 12; Parsons, 2000, p. 103; Rattan, 2001, p. 281; Calabrese, 2008, p. 1451), a pesar de ello, las discusiones y publicaciones a finales de los 90's carecían de una definición exacta y consensuada del término, existiendo cierto grado de confusión respecto a su definición, características cuantitativas, marco mecanístico y significancia biológica.

A raíz de ello, Calabrese & Baldwin (2002, p. 91) publicaron un trabajo que tuvo la finalidad de realizar adelantos en la definición del término, por lo que se llegó a definir el fenómeno de hormesis como un tipo de respuesta adaptativa, caracterizada por respuestas bifásicas, que puede ser inducida directamente *-i. e.*, hormesis por estimulación directa- o indirectamente *-i. e.*, hormesis por estimulación por sobrecompensación.

La hormesis por estimulación directa –DSH por sus siglas en inglés– es una respuesta que opera dentro del mantenimiento normal de las funciones metabólicas en un sistema, reflejando su dinámica normal de modulación fisiológica (Calabrese & Baldwin, 2002, p. 94). Por el contrario, la hormesis por estimulación por sobrecompensación –OCSH por sus siglas en inglés– ocurre como resultado de un proceso biológico de compensación debido a un desequilibrio en la homeostasis de un sistema, es decir, un tipo de efecto de rebote. Se diferencia de la DSH debido a la incorporación del contexto temporal a su evaluación *-i.e.*, la relación de la respuesta debida a la dosis-tiempo– lo cual permite evidenciar los mensajes regulatorios hasta que la condición homeostática es restablecida (Calabrese, 1999, p. 135, 2001, p. 425, 2008, p. 1457).

Ambas respuestas bifásicas poseen características cuantitativas similares respecto al rango y amplitud de la respuesta estimuladora. Esto sugiere que tanto la DSH como la OCSH, pueden estar mediadas vía sistemas regulatorios similares y, por consiguiente,

relacionadas por limitaciones de plasticidad tanto del recurso como del sistema por el cual ocurren (Calabrese & Baldwin, 2002, p. 94).

### 3.1.2 *Historia*

La evidencia acerca de la estimulación utilizando dosis bajas de sustancias tóxicas sobre sistemas biológicos posee una larga historia que cuenta con reportes que datan desde las primeras publicaciones en la literatura científica (Calabrese & Baldwin, 1999a, p. 195). Los primeros reportes aparecen a mediados de la década de 1880 por Hugo Schulz y Rudolph Arndt, quienes documentaron el fenómeno de respuesta estimuladora debida a sustancias tóxicas de manera simultánea. Schulz fue uno de los primeros en observarlo estudiando los efectos de distintas sustancias químicas en la fermentación por levaduras, reportando que numerosos agentes tóxicos estimulaban la producción de CO<sub>2</sub> al aplicarse en bajas concentraciones, mientras que inhibían la producción al aplicarse en dosis altas (Schulz, 1887, p. 423, 1888, p. 517).

Schulz recibió prestigio y reconocimiento por sus investigaciones, no por el hecho del logro científico alcanzado, sino más bien, por el hecho de que sus descubrimientos y observaciones eran generalizables a diferentes organismos y agentes tóxicos, con especial énfasis en las aplicaciones médicas homeópatas para el tratamiento de pacientes (Calabrese & Baldwin, 1999a, p. 195). La perspectiva de Schulz acerca del fenómeno pronto se vio combinada con las observaciones similares de Arndt, lo cual causó que al fenómeno se le conociera como la Ley de Arndt-Schulz.

La Ley de Arndt-Schulz recibió gran aceptación por parte de la comunidad científica de la época y llegó a considerarse –a principios del siglo XX– como una regla general de la toxicología química (Stebbing, 1982, p. 213). Sin embargo, la mayor evidencia sobre este principio biológico fue proporcionada por Ferdinand Hueppe, quien afirmó haber observado el mismo fenómeno, de forma independiente, en sus estudios con bacterias. Hueppe dio crédito a los primeros reportes proporcionados por Schulz, pero éste

poseía una reputación científica sólida –resultado de sus numerosos escritos y contribuciones originales en microbiología– tanto que el concepto de la estimulación a bajas dosis por sustancias tóxicas pronto llegó a referirse como la Regla de Hueppe, en adición a la Ley de Arndt-Schulz (Calabrese & Baldwin, 1999a, p. 195).

Aunque Shultz fue uno de los primeros en describir el fenómeno de estimulación a dosis bajas, Hueppe recibió mayor atención ya que confirmó sus observaciones, enfatizó la habilidad del fenómeno para ser generalizado a otros organismos y reconoció ciertas excepciones a la regla (Calabrese & Baldwin, 1999a, p. 195). Fue la relación de Schulz con el concepto de la práctica médica de la homeopatía –considerada como controversial en aquella época– lo que lo hizo conocido en el medio, elevándolo al nivel de figura histórica como creador del concepto de hormesis (Calabrese, 2008, p. 1452).

A pesar de ello, en una reciente publicación de Henschler (2006, p. 348) se demostró el hallazgo de un reporte científico escrito en 1854 por Rudolf Virchow, donde se documentó el concepto de hormesis en un estudio realizado sobre la actividad de los cilios del epitelio traqueal expuestos a sustancias tóxicas en diferentes concentraciones. Utilizando NaOH y KOH, Virchow observó que la potencia y frecuencia del batido de los cilios se incrementaban al exponer las células a concentraciones bajas, mientras que a concentraciones altas, los movimientos eran paralizados, llegando incluso a la muerte celular. Virchow documentó el fenómeno en un reporte escueto donde enfatizó que sus hallazgos eran reproducibles (Virchow, 1854, p. 133).

No obstante al amplio reconocimiento de los efectos horméticos adquiridos hasta la década de 1920, este concepto fue criticado debido a que no proporcionaba una explicación precisa sobre el mecanismo molecular por el cual actuaba (Stebbing, 1982, p. 214), además de no adecuarse a los modelos estadísticos diseñados a principios de los 30's por Bliss, Gaddum y Fisher (Calabrese, 2008, p. 1460) y requerir de un diseño experimental riguroso para evidenciarse. Por lo tanto, este concepto quedó gradualmente en desuso hasta llegar a

ser ignorado por las principales publicaciones sobre toxicología de la época (Calabrese & Baldwin, 1999b, p. 187).

El concepto resurgió en la década de los 80's debido a la aplicación de políticas de evaluación de riesgo por parte de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (U.S. EPA) en estudios sobre cáncer. Debido a que los carcinógenos actúan mediante modelos de umbral de dosis-respuesta, las metodologías utilizadas en toxicología –que involucraban un número estándar de dosis– no eran adecuadas para evaluar el fenómeno. Esta situación forzó a los científicos a mejorar los diseños experimentales, por lo que fue necesaria una reevaluación del antiguo concepto de hormesis, el cual proporcionó una solución elegante para evaluar el umbral en estos agentes (Calabrese, 2008, p. 1461).

### *3.1.3. Efectos beneficiosos*

La idea de un “efecto beneficioso” asociada dentro del concepto de la hormesis, es difícil de definir, debido a que la relación de la dosis-respuesta es frecuentemente observada en relación a un escenario específico y relativo, es decir, existe cierta subjetividad en su determinación (Calabrese, 2008, p. 1453; Calabrese & Baldwin, 2002, p. 91).

Por ejemplo, existe evidencia acerca de que la administración de dosis subletales de drogas antitumorales, antivirales y antibióticos, pueden incrementar el crecimiento de células, virus y bacterias, respectivamente, siendo perjudiciales para el paciente tratado con la dosis (Calabrese, 2005, p. 463). En estos casos, las concentraciones subletales de estas drogas pueden causar un efecto de hormesis en los agentes patógenos, incrementando su tasa de supervivencia, a expensas del detrimento del paciente, por lo que aquello considerado como “beneficioso” puede no serlo cuando se estudian las variables bajo diferentes puntos de vista.

Así, la idea de una respuesta hormética definida como un efecto beneficioso a dosis bajas es, con frecuencia, compleja, aplicable únicamente en situaciones específicas y, por lo tanto, poco utilizada. Consecuentemente, la hormesis no pretende predecir si un efecto es bueno o malo para un organismo sino, más bien, señalar si existe un estímulo para un parámetro medido (Duke y otros, 2006, p. 29).

#### *3.1.4. Características cualitativas*

Las respuestas horméticas se caracterizan por ser del tipo bifásico, ya que exhiben una estimulación a bajas dosis e inhibición a altas dosis. Ambas dimensiones –estimuladora e inhibidora– deben estar presentes para satisfacer esta definición (Calabrese & Baldwin, 2002, p. 96).

Hasta la fecha se han identificado cuatro tipos de curvas de respuesta por concentración debida a efectos de agentes tóxicos en sistemas biológicos, de las cuales el patrón mayormente observado en hormesis corresponde a la curva- $\beta$  (Stebbing, 1982, p. 215; Calabrese & Baldwin, 1998, p. 357; Anexo 1). Esta curva se caracteriza por un único pico estimulador que ocurre en concentraciones inmediatamente por debajo de aquellas que son inhibitoras (Anexo 2).

#### *3.1.5. Características cuantitativas*

La consistencia cuantitativa de la relación hormética de dosis-respuesta se caracteriza por exhibir una respuesta de estimulación máxima que varía del 30 al 60% sobre el valor de la respuesta presentada por el control (Calabrese & Baldwin, 1997a, p. 553, 1997b, p. 547; Anexo 3).

Tanto la magnitud como la extensión de la zona estimuladora presentan propiedades cuantitativas asociadas al umbral toxicológico tradicional, comúnmente llamado Nivel de Efecto No Observado –NOEL por sus siglas en inglés– o también, bajo

ciertas circunstancias, Punto Cero de Equivalencia –ZEP por sus siglas en inglés– (Calabrese, 2008, p. 1451).

El NOEL es la dosis máxima de cualquier sustancia tóxica a la cual puede estar expuesto un sistema biológico sin que se observen efectos adversos. Su valor de respuesta coincide con el valor de la respuesta estimuladora debida al control, y su determinación se considera un elemento fundamental en la evaluación de la relación dosis-respuesta de la hormesis en cualquier estudio científico (Calabrese & Baldwin, 1997b, p. 543; Anexo 3).

En general, el rango hormético completo de dosis-respuesta se localiza dentro del rango de las 10 órdenes de magnitud por debajo del NOEL. La distancia de la respuesta de estimulación máxima al NOEL es difícil de discernir ya que ocurre en función del número de dosis empleadas, su variabilidad de respuesta y el valor estimado del NOEL; no obstante, se ha documentado que ocurre en el rango de las 3 a las 6 órdenes de magnitud –i. e., la dosis responsable del NOEL posee de 3 a 6 órdenes de magnitud por encima del valor de la dosis responsable de la respuesta de estimulación máxima (Calabrese & Baldwin, 1997b, p. 547).

Las relaciones dosis-respuesta que conforman a la curva- $\beta$  son afectadas por cuatro eventos principales: a) La magnitud de la respuesta estimuladora a bajas dosis; b) el número de dosis que establecen la integridad de la curva- $\beta$ ; c) el método estadístico utilizado; y, d) la reproducibilidad de los hallazgos (Calabrese & Baldwin, 1997b, p. 547).

### 3.2. Plantas y Hormesis

A inicios los años 20's el concepto de hormesis fue aplicado con el fin de estimular el crecimiento en plantas para fines comerciales, especialmente con respecto al potencial de ciertas sales químicas para este fin (Calabrese & Baldwin, 2000, p. 41). Numerosos estudios se llevaron a cabo para estudiar el fenómeno utilizando insecticidas, herbicidas, fungicidas, antibióticos y solventes de laboratorio (Appleby, 1998, p. 270), junto con otras

investigaciones que se ocuparon de los efectos de los rayos X sobre la estimulación del crecimiento en estos organismos (Johnson, 1928, p. 65, 1931, p. 685; Shull & Mitchell, 1933, p. 287; Long & Kersten, 1936, p. 615).

Ninguno de estos esfuerzos fue viable en términos comerciales por razones diversas; a pesar de ello, los datos obtenidos aportaron evidencia sobre la ocurrencia de la respuesta hormética en especies comerciales (Calabrese & Blain, 2009, p. 46).

### 3.2.1. *Herbicidas*

Numerosas respuestas metabólicas y fisiológicas han sido estimuladas en plantas al ser expuestas a dosis bajas de herbicidas –*e.g.*, rendimiento de semillas, resistencia a patógenos, aumento en biomasa, crecimiento del follaje, germinación, contenido proteico, etc.– de hecho, uno de los primeros herbicidas, el MCPA, fue desarrollado con el fin de incrementar el rendimiento en las cosechas (Allen, Downes, Mees & Springett, 1978, p. 35; Duke y otros, 2006, p 30; Anexo 4).

Por ejemplo, Wiedman y Appleby (1972, p. 65) estudiaron el efecto de 16 herbicidas sobre el aumento de biomasa en cultivos de avena (*Avena sativa*, L.) y pepino (*Cucumis sativus*, L.). Evidenciaron un efecto de hormesis sobre el crecimiento de la raíz y el aumento de peso seco en ambas especies al aplicar dosis subletales de herbicidas inhibidores del fotosistema II, obteniendo resultados estadísticamente significativos con 13 de ellos (*i.e.*, barban, bromacilo, bromoxinil, dalapon, diuron, EPTC, MCPA, MSMA, propacloro, simazina, terbacilo, clorambén y trifluralina) (Anexo 4).

Velini, Alves, Godoy, Meschede, Souza & Duke (2008, p. 489), observaron que el glifosato induce un efecto de hormesis en una variedad de cultivos y especies de plantas como: soya, café, sorgo, *Eucaliptus grandis* Hill ex Maiden, maíz y *Pinus caribea* L. Evidenciaron un incremento en el peso seco de las plantas al ser expuestas a dosis subletales del herbicida (1.8-18g AE ha<sup>-1</sup>), así como también un aumento en la

concentración del ácido siquímico en los cultivos de soya y maíz, incrementando la inhibición de la síntesis de aminoácidos aromáticos en plantas.

Asimismo Wagner, Kogan & Parada (2003, p. 228) estudiando el efecto fitotóxico del glifosato en el maíz (*Zea mays* L.), evidenciaron un aumento en el peso húmedo en plantas cuya absorción radicular del herbicida fue menor a los 0.6µg. La absorción del herbicida en cantidades mayores produjo efectos fitotóxicos como la inhibición del crecimiento y clorosis, demostrándose una respuesta bifásica sobre el sistema.

El cultivo de la caña de azúcar ha sido asimismo sujeto a investigación toxicológica. McDonald, Morgan & Jackson (2001, p. 102) estudiaron la respuesta de 47 variedades de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) a dosis subletales de cuatro herbicidas (*i.e.* ethrel, fusilade, verdict y glifosato). Encontraron una respuesta estimuladora del crecimiento en 20 variedades de caña al utilizar glifosato y 15 variedades utilizando una mezcla de fusilade/ethrel, ocho semanas después de la aplicación. El herbicida fusilade estimuló la totalidad de las variedades tres semanas después de la aplicación, pero mostró un efecto negativo al disminuir la producción de azúcar a las 15 semanas después de la aplicación. El glifosato y la mezcla de herbicidas fusilade/ethrel demostraron estimular significativamente el crecimiento en las variedades de caña de azúcar económicamente importantes durante el comienzo de la cosecha.

Dosis subletales de herbicidas han incrementado igualmente las defensas de los cultivos, proporcionando protección contra patógenos. Por ejemplo, Nelson, Renner & Hammerschmidt (2002, p. 353) demostraron que la aplicación de dosis subletales de herbicidas inhibidores de la enzima protoporfirinógeno oxidasa, incrementó la producción de fitoalexinas –compuestos antimicrobianos– en el cultivo de soya (*Glycine max* L.), reduciendo la incidencia de enfermedades como la esclerotiniosis en las hojas del cultivo, en comparación con el tratamiento control que mostró una alta tasa de necrosis foliar debido a esta enfermedad.

Adicionalmente, el contenido proteico del trigo (*Triticum* spp.) ha sido estimulado por aplicaciones foliares subletales de terbacilo y simazina. Strbac, Ayers & Ries (1974), evidenciaron un aumento del contenido de gliadinas en semillas al aplicar 70g/ha de terbacilo, logrando un incremento neto del 24% con respecto al control. Adicionalmente observaron incrementos significativos en el contenido absoluto de proteínas –albúminas, globulinas y gluteinas– en el forraje y semillas al aplicar dosis subletales de simazina y nitrógeno en los cultivos.

Los ejemplos anteriores indican que el concepto de hormesis es un fenómeno que ha sido documentado en plantas, siendo generalizable e independiente de la especie, el fenómeno evidenciado y la clase de agente tóxico con el que se pruebe.

#### 4. JUSTIFICACIÓN

La hormesis es un fenómeno bifásico de dosis-respuesta caracterizado por presentar una respuesta de estimulación a bajas dosis e inhibición a altas dosis (Calabrese & Blain, 2009, p. 93). Ha sido demostrado en un gran número de grupos taxonómicos (desde bacterias hasta mamíferos), en diferentes rasgos biológicos (crecimiento, reproducción, longevidad, etc.) y en una amplia variedad de agentes tóxicos (metales pesados, antibióticos, herbicidas, insecticidas, entre otros)(Calabrese & Baldwin, 1997a, p. 553; Forbes, 2000, p. 12).

Debido al incipiente interés con respecto a los efectos horméticos dentro de la farmacología y toxicología, el mayor enfoque en los estudios ha sido dirigido a animales, especialmente mamíferos, como sistemas de prueba. Poca documentación existe sobre los efectos horméticos en plantas y prácticamente no existe información sobre el mecanismo molecular por el cual actúa (Duke y otros, 2006, p. 29; Calabrese, 2008, p. 1463).

En plantas, los estudios realizados han evidenciado el efecto hormético de ciertos herbicidas sobre numerosas repuestas metabólicas y fisiológicas, como: Tasa fotosintética, respuesta inmunológica, regeneración de tejidos, germinación de semillas, entre otras (Calabrese & Baldwin, 1998, p. 360). Pese a las investigaciones realizadas, la mayoría de estudios con herbicidas no evalúan dosificaciones por debajo de las concentraciones letales, puesto que estos estudios se concentran en ellas (Duke y otros, 2006, p. 29).

Es por ello que la presente investigación buscó estudiar el efecto de hormesis del herbicida Paraquat sobre el aumento en el área foliar de *Phaseolus vulgaris* L., para esclarecer si su aplicación puede implementarse para el mejoramiento de los cultivos de frijol promoviendo su reproducción y sobrevivencia, al aumentar la producción de semillas e incrementar su resistencia a patógenos –puesto que el área foliar y rendimiento del cultivo son parámetros que se correlacionan positivamente. Los resultados ayudarán a comprender de mejor manera los efectos horméticos en distintas repuestas fisiológicas en plantas. Por

lo tanto, la información generada dará paso al planteamiento de estudios enfocados al diseño y desarrollo de nuevas metodologías que estimulen parámetros biológicos esenciales dentro de las ciencias agrícolas, con el fin de incrementar el rendimiento en las cosechas y mejorar la calidad de los productos.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1. General

Determinar el efecto de hormesis del herbicida Paraquat sobre el aumento del área foliar de *Phaseolus vulgaris* L.

### 5.2. Específicos

5.2.1. Establecer el rango de concentración del herbicida Paraquat que produzca una estimulación máxima de hormesis, sobre el desarrollo del área foliar en *Phaseolus vulgaris* L.

5.2.2. Identificar el tipo de curva de dosis-respuesta debida a la administración de Paraquat sobre el crecimiento del área foliar en *Phaseolus vulgaris* L.

5.2.3. Determinar la magnitud de área fotosintetizante de *Phaseolus vulgaris* L., utilizando el Índice de Área Foliar (IAF) como indicador de la relación entre la superficie foliar y el área de proyección de la planta.

## **6. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN**

La adición de Paraquat en dosis subletales produce un efecto de hormesis sobre el aumento en el área foliar de *Phaseolus vulgaris* L.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1. Universo

#### 7.1.1. *Población*

- Frijol negro mejorado (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae), por el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA–, variedad Ligero.

#### 7.1.2. *Muestra*

- 800 plantas de frijol negro mejorado (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae), distribuidas en 8 tratamientos.

### 7.2. Materiales

#### 7.2.1. *Especie*

Frijol negro mejorado (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae), por el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA–, variedad Ligero.

#### 7.2.1.1. *Origen*

El Frijol ICTA Ligero es una variedad producto de la cruce entre las líneas DOR 385 del CIAT y JU-90-4 del ICTA, realizada por el Programa de Frijol del ICTA con el apoyo del Programa Cooperativo Regional de Frijol para Centroamérica, México y el Caribe (PROFRIJOL) en el Centro de Producción del departamento de Jutiapa, Guatemala (Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas [ICTA], 1996, p. 2).

### 7.2.1.2. *Características morfológicas*

Esta variedad posee un hábito de crecimiento determinado; su altura es de 60 cm y el color de la flor es lila; la vaina madura es de color crema y posee seis granos de color negro oscuro. La madurez fisiológica se presenta a los 64 días y puede cosecharse a los 71 días si el clima está seco (ICTA, 1996, p. 3).

### 7.2.1.3. *Características agronómicas*

Dentro de las características agronómicas del frijol mejorado se encuentra la adaptabilidad a alturas de hasta 1200 msnm, así como a la siembra en terrenos planos y laderas; se puede sembrar también en monocultivo o asociada con maíz y sorgo. Esta variedad es resistente a enfermedades como el mosaico dorado, antracnosis, bacteriosis y roya (ICTA, 1996, p. 3-4).

### 7.2.1.4. *Rendimiento*

En condiciones experimentales el Frijol ICTA Ligero ha mostrado rendimientos experimentales de hasta 2.59 toneladas métricas por hectárea, con un promedio de 1.66Tm/ha. A nivel comercial el rendimiento varía entre 20 y 30 quintales por manzana, en condiciones adecuadas de humedad y en monocultivo (ICTA, 1996, p. 3).

## 7.2.2. *Reactivos*

<b>Herbicida</b>	<b>Formulación</b>	<b>Nombre Químico</b>
Gramoxone®	Paraquat (200 g·L <sup>-1</sup> )	Dicloruro de 1,1'-dimetil- 4,4'-bipiridilo

### 7.2.3. *Equipo*

Vasos de duroport de 10 oz.

Manguera

Mascarilla

Tierra abonada

Arena

Rociadores

Computadora personal Apple MacBook

Guantes

Bata

Lentes de seguridad

Invernadero privado

Termómetro ambiental

Higrómetro

Mesa de trabajo

H<sub>2</sub>O desmineralizada

Recipientes de polietileno blanco de 1 L.

Balanza analítica OHAUS®

Libreta de campo

### 7.2.4. *Cristalería*

Balones de aforo de 100 y 1000 ml.

Pipeta de 1 y 10 ml

Probeta de 500 ml

### 7.3. Métodos

#### 7.3.1. *Diseño Experimental*

Para el diseño experimental se aplicó un diseño totalmente al azar, con el fin de evitar el fenómeno de pseudoreplicación en el estudio (Hulbert, 1984, p. 193). Se evaluaron un total de 8 tratamientos distribuidos en el control y siete concentraciones del herbicida: 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01, 0.005 y 0.001 mg·L<sup>-1</sup>.

##### 7.3.1.1. *Unidad experimental*

- 1 planta de frijol negro mejorado (*Phaseolus vulgaris* L. Fabaceae) por el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA-, variedad Ligerito.

##### 7.3.1.2. *Réplicas*

- Se efectuaron un total de 100 réplicas por tratamiento, calculadas según la fórmula general de muestreo, con una varianza de 156.1 (área), un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$  y un límite de error de 1.54.

#### 7.3.2. *Invernadero*

El invernadero utilizado tuvo las siguientes dimensiones: 7 x 13 x 1.95 metros y se ubicó bajo las coordenadas geográficas: 14°34'19.42'' N, 90°35'26.99'' O; a 1481 msnm.

#### 7.3.3. *Germinación*

Para la germinación se utilizaron láminas de papel periódico, las cuales contuvieron 100 semillas –dispuestas en 10 columnas y 10 filas– de frijol negro, con una separación

equidistante. Los rollos fueron humedecidos con agua utilizando aspersores y colocados en bolsas plásticas para mantener la humedad, cuidando de ser colocados en un lugar oscuro. Se humedecieron regularmente durante 2 o 3 días para dar lugar al proceso de germinación. Se consideró como semilla germinada aquella que rompió la testa.

#### *7.3.4. Siembra*

La siembra fue efectuada únicamente con semillas germinadas para asegurar la eficiencia del cultivo. Éstas fueron colocadas en recipientes de duroport de 10 oz. con un sustrato compuesto en partes iguales por tierra abonada y arena –previamente humedecido– a una profundidad de 1 cm. Las plantas fueron ubicadas en un invernadero privado donde se tuvo registro de las variables de humedad y temperatura.

#### *7.3.5. Preparación de las soluciones*

Las soluciones de los siete tratamientos a evaluar se prepararon mediante diluciones a partir del herbicida comercial Gramoxone<sup>®</sup> (Paraquat 200 g·L<sup>-1</sup>) utilizando pipetas de 10 ml y balones de aforo de 1000 ml. Las soluciones resultantes fueron colocadas en recipientes de polietileno blanco de 1 litro de capacidad y posteriormente en aspersores independientes para evitar contaminación al momento de la aplicación.

Para establecer las concentraciones del herbicida, fue necesario determinar el Nivel de Efecto No Observado (NOEL) del herbicida Paraquat sobre el área foliar de *Phaseolus vulgaris* L. Esto se determinó en un muestreo realizado durante los meses de junio a agosto de 2009, donde se evaluaron siete concentraciones subletales al azar del herbicida, comenzando por la dosis letal: 1500, 1000, 500, 100, 50, 10 y 1 mg·L<sup>-1</sup>. Todas las concentraciones excepto la de 10 y 1 mg·L<sup>-1</sup> provocaron daños físicos a las hojas de la planta.

A las plantas de estos dos tratamientos se les calculó el valor del área foliar y se compararon con los valores del área foliar para las plantas del tratamiento control. Utilizando el Análisis de Varianza se determinó la concentración del herbicida que no provocó una diferencia significativa en estos valores –NOEL- siendo ésta de 10 mg·L<sup>-1</sup>.

Debido a que es recomendado evaluar el fenómeno de hormesis con cuatro dosis –como mínimo– distribuidas por debajo de dicha concentración (Calabrese & Baldwin, 1997b, p. 548), se evaluaron un total de 7 dosificaciones para una óptima evaluación del fenómeno.

### *7.3.6. Aplicación*

La aplicación de las diferentes concentraciones del herbicida fue realizada una única vez durante la ontogenia de la planta, rociando 2.5 ml de la solución sobre las hojas de la misma a los 15 días de vida para dar lugar a los procesos de estimulación foliar.

La razón de la aplicación única de los tratamientos radicó en la intención de reducir las fuentes de variación de los resultados en el estudio. Ya que la evaluación del fenómeno de dosis-respuesta es el resultado de un proceso dinámico en el que interactúan diferentes variables, fue sugerido por el Dr. Edward Calabrese<sup>1/</sup> la implementación de una única aplicación, con el fin de facilitar la asociación de las variables biológicas implicadas en la relación de dosis-respuesta toxicológica evaluada (comunicación personal, abril 28, 2010).

---

<sup>1/</sup> El Dr. Edward Calabrese es profesor de toxicología del Departamento de Ciencias de la Salud de la Universidad de Massachusetts en Boston, USA. Es un experto mundial en el tema de hormesis, el cual investiga desde 1976.

### 7.3.7. Recolección de Datos

#### 7.3.7.1. Área foliar

La capacidad de fotosíntesis de las plantas está directamente relacionada con la superficie foliar expresada como Índice de Área Foliar (Leopold & Kriedemann, 1975, p. 29; Kozlowski & Kramer, 1979, p. 64), el cual relaciona la extensión de la superficie asimilatoria de la planta con la superficie de suelo ocupado por la proyección de la misma. Este parámetro se calculó mediante la relación:

$$\text{IAF} = \text{AF}/\text{AP}$$

donde: AF = área foliar (cm<sup>2</sup>) por planta.

AP = área de proyección (cm<sup>2</sup>).

Para determinar el área foliar (AF), se efectuó un único muestreo al finalizar la primera etapa fenológica de la planta –etapa de foliación<sup>2/</sup>– determinada por la aparición de las estructuras florales –etapa de floración–. Para ello se aplicó el método de la pesada, donde se efectuó una relación de proporciones determinando el peso de la totalidad de las hojas producidas por la planta, versus el peso de una porción de una hoja, con área conocida, determinando así el área foliar total. Esto utilizando una balanza analítica para obtener un nivel de incertidumbre adecuado.

Para determinar el área de proyección (AP), se registraron los datos del área de la sombra de la planta proyectada en el suelo al momento en que los rayos del sol fueron perpendiculares a la misma –rango aproximado de las 11:00 am a la 1:00 pm–. Para ello se midió el diámetro de la sombra en diferentes puntos proyectados por la planta; con estos

---

<sup>2/</sup> El área foliar se determinó al finalizar la fase de foliación, debido a que es la etapa de mayor producción de biomasa (etapa de crecimiento vegetativo). No se tomó en cuenta la fase de floración debido a que en esta etapa la energía de la planta se concentra en la formación de flores y no de biomasa foliar (Salisbury y Ross, 1994, p. 386) por lo que no aplicó para efectos del presente estudio.

valores se realizó un promedio para calcular el radio de la sombra y así determinar el área del círculo formado por el área de proyección mediante la relación:  $\text{Área} = \pi r^2$ .

#### *7.3.7.2. Temperatura y Humedad*

Las condiciones de temperatura en el invernadero fluctuaron de 30°C en el día a 18°C en la noche. La humedad relativa fluctuó entre 42% en el día y 70% en la noche.

#### *7.3.8. Análisis de Datos*

Para el análisis estadístico se evaluó la normalidad y homocedasticidad de los datos del área foliar utilizando la prueba de Shapiro-Wilk y Bartlett, respectivamente. Puesto que ambos supuestos fueron cumplidos, se realizó la prueba del Análisis de Varianza de una vía, con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ . Posteriormente se realizó una prueba post-hoc de Dunnett, con el fin de determinar la existencia de diferencias en los valores del área foliar entre los diferentes tratamientos con respecto al control. Todo ello con la ayuda del programa estadístico SPSS 15.0.

La relación dosis-respuesta fue evaluada inicialmente en forma gráfica (diagrama de dispersión) y posteriormente se realizó un análisis de regresión no lineal, con el fin de determinar el tipo de curva de dosis-respuesta obtenida en el estudio.

## 8. RESULTADOS

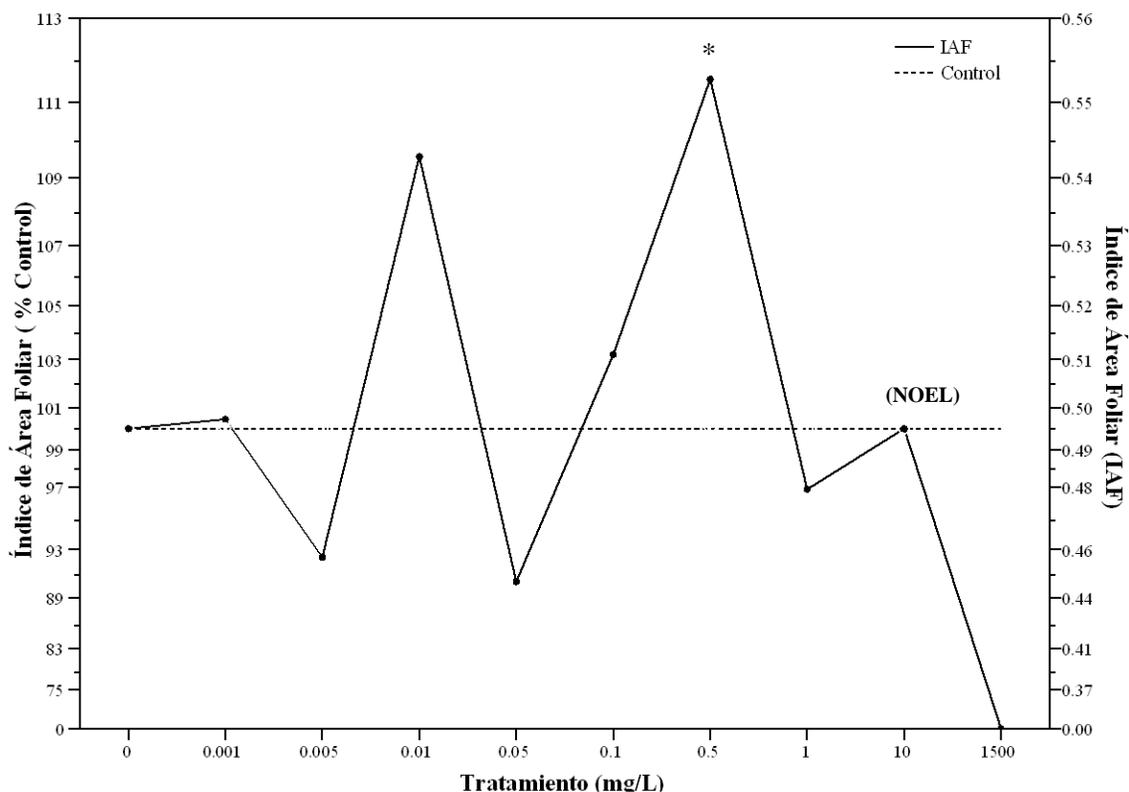
### 8.1. Tratamientos

La aplicación de dosis subletales del herbicida Paraquat produjo un efecto hormético sobre el crecimiento del área foliar en *Phaseolus vulgaris* L. Cuatro de las siete dosis del herbicida aplicadas (0.001, 0.01, 0.1 y 0.5 mg·L<sup>-1</sup>) provocaron un efecto estimulador al incrementar los valores del Índice de Área Foliar –IAF– con respecto a los valores obtenidos en el grupo control (Fig. 1, Cuadro 1). Los valores máximos del IAF (109.6 y 111.6 % con respecto al control) se obtuvieron al aplicar las dosis 0.01 y 0.5 mg·L<sup>-1</sup>, respectivamente, siendo la última el único tratamiento con diferencia significativa con respecto al control ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 1). Las tres dosis restantes del herbicida evaluadas (0.005, 0.05 y 1 mg·L<sup>-1</sup>) provocaron un efecto negativo al inhibir el crecimiento del área foliar con respecto a los valores obtenidos en el grupo control (Fig.1, Cuadro 1).

La zona hormética de dosis-respuesta se localizó dentro del rango de las 3.5 órdenes de magnitud por debajo del Nivel de Efecto No Observado –NOEL– definida por 2 intervalos independientes, separados por una única dosis inhibidora entre ellos (Fig. 1, Cuadro 1). El primer intervalo hormético se ubicó entre las concentraciones de 1 y 0.05 mg·L<sup>-1</sup>, y el segundo entre las concentraciones de 0.05 y 0.005 mg ·L<sup>-1</sup>, es decir, de 1 a 2.5 y de 2.5 a 3.5 órdenes de magnitud por debajo del NOEL, respectivamente, (Fig. 1). La consistencia cuantitativa de la relación hormética de dosis-respuesta exhibió una respuesta de estimulación máxima correspondiente al 12% sobre el valor de la respuesta presentada por el control, ubicándose en el primer intervalo de la zona hormética en el estudio –1.5 órdenes de magnitud por debajo del NOEL– (Fig. 1).

### 8.2. Modelo de dosis-respuesta

Los análisis de regresión evaluados sugieren la existencia de una relación funcional poco estrecha entre la dosificación de Paraquat y el IAF, puesto que los valores del coefi-



**Figura 1.** Efecto de hormesis del herbicida Paraquat sobre el aumento del área foliar de *Phaseolus vulgaris*. Los datos representan la media del Índice de Área Foliar –IAF– por tratamiento ( $n = 100$  plantas por dosis aplicada). La línea horizontal constituye el promedio del grupo control. La dosis letal de Paraquat corresponde a los  $1500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . El asterisco (\*) denota significancia estadística ( $p < 0.05$ ).

ciente de determinación fueron cercanos a cero, indicando la existencia de una bondad de ajuste baja en los modelos (Cuadro 1). Otros tipos de regresiones evaluadas fueron las de crecimiento y de tipo exponencial (datos no mostrados), cuyos valores de  $R^2$  fueron similares a los obtenidos. Por lo anteriormente expuesto, ningún modelo evaluado fue utilizado con fines de predicción y estimación del fenómeno hormético para el presente estudio.

Por otra parte, la curva de dosis-respuesta obtenida mostró un patrón similar al presentado por la curva- $\delta$ , uno de los cuatro tipos de patrones de respuesta por concentración identificados en la descripción de los efectos de agentes tóxicos en sistemas

**Cuadro 1.** Valores promedio del Índice de Área Foliar (IAF), valores de probabilidad estadística para el test de Dunnett y coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de las regresiones lineales y no lineales de los datos horméticos en el estudio. Los tratamientos con diferencia significativa con respecto al control ( $p < 0.05$ ) están marcados con un asterisco.

<b>Paraquat (mg·L<sup>-1</sup>)</b>	<b>IAF</b>	<b>Test de Dunnett</b>
	<b>% Control</b>	<b><i>p</i></b>
0	100.00	---
0.001	100.44	0.851
0.005	92.32	1.000
0.01	109.65	0.071
0.05	90.32	1.000
0.1	103.19	0.610
0.5*	111.65	0.024
1	96.83	0.980

<b>Modelo</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b><i>p</i></b>
Lineal	0.033	0.665
Cuadrático	0.033	0.918
Cúbico	0.121	0.901
Compuesto	0.03	0.682

biológicos (Towsend & Luckey, 1960, p. 47; Stebbing, 1982, p. 215; Anexo 1, D), pese a que el comportamiento mayormente observado en modelos horméticos en estudios sobre el fenómeno de crecimiento ha sido el de la curva- $\beta$  (Stebbing, 1982, p. 215; Anexo 1, B).

## 9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados en el estudio mostraron que la aplicación de Paraquat en dosis subletales puede estimular el aumento del área foliar en *P. vulgaris* L., y que dicha estimulación ocurrió únicamente en rangos de concentración del herbicida definidos. Si bien cuatro de las siete dosis del herbicida evaluadas produjeron una tendencia hormética en los experimentos, únicamente la dosis de  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  produjo una magnitud de estimulación significativa ( $p = 0.024$ ) al inducir un incremento del 12% en los valores del IAF con respecto a los valores producidos por plantas del grupo control (Cuadro 1).

Estos resultados sugieren la existencia de un efecto hormético real en el estudio, puesto que es posible reconocer características que tipifican el fenómeno de hormesis en los datos. Por ejemplo, la respuesta de estimulación mostró un comportamiento bifásico, exhibiendo las dimensiones estimuladora e inhibidora propias de las características cualitativas del fenómeno (Calabrese & Baldwin, 2002, p. 94). Asimismo, la magnitud de estimulación máxima en el estudio no excedió al doble de la magnitud presentada por el control, manteniendo una consistencia cuantitativa afín a la reportada en los estudios horméticos (Calabrese, 2008, p. 1467). Aunado a ello, los resultados manifestaron un poder estadístico significativo, parámetro que aporta validez al estudio y sustenta –junto a los demás hechos– la idea de un efecto hormético veraz en los experimentos (Calabrese & Baldwin, 1997b, p. 549, 2002, p. 96).

### 9.1. Magnitud de hormesis

La magnitud de estimulación máxima es la característica más sobresaliente de la relación hormética de dosis-respuesta, puesto que este dato es considerado como un criterio importante para la evaluación cuantitativa de la solidez de la evidencia hormética encontrada en un estudio (Calabrese, 2008, p. 1453; Calabrese & Baldwin, 1997b, p. 549; Anexo 5). Debido a ello, este dato ha sido ampliamente calculado y documentado en los

estudios horméticos. En ese orden, Calabrese & Blain (2005, p. 297) basados en el análisis de miles de investigaciones con relaciones de dosis-respuesta mostrando tendencias horméticas, documentaron que el 64% de los estudios sobre crecimiento en plantas presentaron una magnitud de estimulación máxima entre 10-50% sobre el valor del control. En general observaron que más del 80% de las investigaciones presentaron respuestas de estimulación máxima menores al 100% sobre el valor del control, manteniendo un promedio estimado de 30-60% mayor al presentado por el grupo control.

Estos datos indican que la magnitud de estimulación máxima observada en el presente estudio es consistente con la respuesta general de estimulación evidenciada en estudios sobre crecimiento en plantas. Es importante destacar que este parámetro –aún siendo parte de la respuesta general– se califica como una respuesta de estimulación débil, puesto que se mantuvo por debajo del promedio global estimado del 30-60% (Calabrese & Blain, 2005, p. 299).

Esta respuesta débil de estimulación, comparada con el promedio general observado (Anexo 3), se obtuvo posiblemente en parte por el índice matemático utilizado para estimar la respuesta hormética en el estudio. Dicho índice efectúa una relación de proporciones con base a dos parámetros geométricos y, por consiguiente, su relación de respuesta depende del cociente entre ambos y no directamente del aumento individual de cada función; por lo tanto, resulta más difícil evidenciar un aumento en los valores bajo este criterio que utilizando una única función geométrica (Acosta, Acosta-Gallegos, Amador y Padilla, 2008, p. 13).

Bajo este contexto, la solidez de la evidencia hormética en el estudio fue asimismo catalogada utilizando la metodología de evaluación propuesta por Calabrese & Baldwin (1997b, p. 547), la cual toma en cuenta características importantes del fenómeno hormético como la magnitud de respuesta, la previa determinación del NOEL y el poder estadístico, entre otros. (Anexo 5). El resultado del análisis produjo un puntaje global de 10 puntos

sobre 20, por lo que basados en la categorización establecida, se clasificó la solidez de la evidencia hormética en el estudio como del tipo débil-moderada (Anexo 6).

Este resultado se vio influenciado probablemente por dos hechos principales: a) la existencia de una única dosis con diferencia estadísticamente significativa de las siete concentraciones evaluadas por debajo del NOEL; y, b) la débil magnitud de estimulación evidenciada en general para todos los tratamientos. Estos hechos causaron la menor ponderación del estudio en sus categorías respectivas, lo que contribuyó a la clasificación de la evidencia hormética como débil-moderada.

## 9.2. Implicaciones biológicas

El hecho de evidenciar una respuesta de estimulación máxima del 12% sobre el nivel del control en los valores del IAF, conlleva implicaciones biológicas importantes, puesto que a nivel experimental se ha demostrado que este índice se relaciona estrechamente con el rendimiento en los cultivos, ya que asocia la capacidad fotosintética y la acumulación de biomasa en las plantas; por ello, cualquier aumento en este parámetro puede implicar un aumento del rendimiento del cultivo, mejorando la producción (Acosta y otros, 2008, p. 14; Acosta-Gallegos & Adams, 1991, p. 213).

A pesar de obtenerse una respuesta débil de hormesis, es importante destacar que este resultado no supone que la respuesta carezca de un significado biológico significativo, sino más bien, clasifica la solidez de hormesis encontrada. Calabrese (2008, p. 1457) sugiere que aún las respuestas de estimulación bajas, pueden producir impactos económicos significativos, si sus efectos son consistentes en un parámetro medido.

Por ello, en este caso en particular, el hecho de haber evidenciado una estimulación en el IAF y que ésta haya sido estadísticamente significativa, sustenta la intención de sugerir la aplicación de la dosis de  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de Paraquat como un tratamiento estimulante para el mejoramiento del cultivo de *P. vulgaris* L. Sin embargo esta disposición podría ser

precipitada y riesgosa, en virtud de que este es un estudio inicial del fenómeno hormético en esta especie y bajo este herbicida en particular.

Si bien es cierto que la respuesta de estimulación satisfizo los aspectos cualitativos y cuantitativos del fenómeno hormético, dejó insatisfechos otros aspectos importantes. Por ejemplo, el tipo de curva de dosis-respuesta esperada en el estudio –por la forma en que fue diseñada la metodología– era el de la curva beta ( $\beta$ ), puesto que es el patrón mayormente observado en estudios horméticos (Towsend & Luckey, 1960, p. 47; Stebbing, 1982, p. 215; Calabrese, 2008, p. 1451). Contrario a esto, el presente estudio evidenció el tipo de curva delta ( $\delta$ ) como patrón de comportamiento (Fig. 1; Anexo 1). La naturaleza de la curva- $\delta$  no permite establecer un rango determinado de estimulación, ya que su comportamiento exhibe variaciones de estimulación abruptas e inconstantes (Anexo 1, D). Por el contrario, la curva- $\beta$  se caracteriza por un único pico estimulador que es precedido por respuestas de estimulación incipientes, lo cual permite definir apropiadamente un rango de estimulación hormético (Anexo 2).

Con este propósito, a partir de los datos obtenidos, es posible sugerir una redelimitación del rango de estudio, con el fin de obtener un patrón de curva- $\beta$  y establecer un rango de estimulación. Puesto que la única dosis estadísticamente significativa en el estudio ( $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) se localizó en el primer intervalo hormético evidenciado, es decir, de 1 a 2.5 órdenes de magnitud por debajo del NOEL (Fig. 1), se puede sugerir una focalización a esa zona hormética de dosis-respuesta para futuros estudios. Al refinar las dosis dentro de este rango es probable obtener un tipo de curva- $\beta$  la cual presente una magnitud de estimulación mayor a la evidenciada en el presente estudio y un mayor número de dosis estadísticamente significativas que eleven la solidez de evidencia hormética en el experimento. Estos hallazgos permitirán establecer un rango de estimulación apropiado para sugerirlo en la implementación del mejoramiento de cultivo de *P. vulgaris* L.

### 9.3. Aplicaciones

Existen diferentes autores que opinan que el fenómeno de hormesis es poco generalizable, difícil de evidenciar y que su aplicación no será un uso común en la producción de cultivos (Appleby, 1998, p. 270; Forbes, 2000, p. 12; Parsons, 2003, p. 443), sin embargo otro grupo de autores sostienen que los efectos estimuladores en plantas poseen el potencial para mejorar la producción y calidad de las cosechas (Cedergreen, 2008, p. 429; Velini y otros, 2008, p. 489). De hecho, recientes estudios horméticos en plantas señalan la posibilidad de mejorar el rendimiento de los cultivos utilizando herbicidas o fitohormonas (Cedergreen y otros, 2007, p. 150; Belz, 2008, p. 80; Velini y otros, 2008, p. 489).

Por ejemplo, Cedergreen, Felby, Porter & Streibig (2009, p. 54), evidenciaron que la aplicación de dosis subletales de glifosato en cebada (*Hordeum vulgare*, var. *Barke*) incrementó el rendimiento global del cultivo en un 15%, demostrando que el mecanismo hormético implicado redirigía selectivamente la distribución de los recursos orgánicos hacia los granos. Observaron asimismo que las plantas tenían de 27-36% más granos que las plantas sin tratamiento, con la característica que éstos tenían un peso ligeramente menor.

En otro estudio reciente, Cedergreen & Andresen (2010, p. 1) estudiaron el efecto del extracto de semillas de la planta de té (*Camellia sp.*) sobre el mejoramiento del cultivo de la fresa (*Fragaria sp.*). Evidenciaron que las plantas tratadas con dosis subletales aumentaron su rendimiento en un 38% comparadas con las plantas del grupo control. Además estudiando su efecto en otras especies observaron un incremento de biomasa en los cultivos de remolacha (*Beta vulgaris L.*), mostaza (*Sinapsis sp.*), avena (*Avena sativa L.*) y cebada (*Hordeum vulgare*, var. *Barke*) en un rango aproximado de 27 a 41% comparadas con plantas control.

Estos resultados demuestran el potencial que encierra el tema de hormesis en el mejoramiento del rendimiento en cultivos debida a la aplicación de dosis subletales de

herbicidas. A pesar de la evidencia existente, la hormesis aún no ha sido implementada en la producción de cultivos, principalmente debido a la incertidumbre concerniente a la reproducibilidad de las respuestas horméticas bajo las condiciones ambientales contrastantes en el campo (Duke y otros, 2006, p. 32; Belz & Cedergreen, 2010, p. 293).

Ya que la humanidad se enfrenta a un desafío enorme al equilibrar la brecha entre la necesidad de alimentos y la disponibilidad de tierras agrícolas en un mundo con la perspectiva de aumentar su población de los actuales 6 mil a 9 mil millones de habitantes en 2050, la búsqueda de nuevas biotecnologías que incrementen el rendimiento de cultivos son necesarias (Martindale & Trewavas, 2008, p. 1068; Murchie, Pinto & Horton, 2009, p. 532). Por ello, la continuación de la investigación del fenómeno hormético contribuirá a la comprensión de los procesos fisiológicos detrás de la estimulación de los parámetros en cultivos con el fin último de implementar en un futuro cercano el uso de este principio biológico en la agricultura moderna en Guatemala y el mundo.

#### 9.4 Modelo predictivo

La naturaleza de la relación entre la dosificación de Paraquat y el IAF no pudo representarse bajo un modelo matemático, debido a que ninguna regresión evaluada obtuvo un coeficiente de determinación satisfactorio para explicar la variación obtenida en el estudio (Cuadro 1). Incluso, el uso de un modelo matemático desarrollado para el tipo de curva- $\delta$  en investigaciones previas quedó descartado, ya que este patrón ha sido poco documentado en el fenómeno hormético, por lo que no existe una ecuación desarrollada en la actualidad. No obstante a ello, será apropiado evaluar un modelo únicamente cuando la relación de dosis-respuesta evidenciada sea similar al de la curva- $\beta$ , puesto que este tipo de curva posee modelos matemáticos desarrollados actualmente (Schabenberger, Tharp, Kells & Penner, 1999, p. 713) y es idónea para evidenciar rangos de estimulación completos.

## 10. CONCLUSIONES

- 10.1 La adición de dosis subletales de Paraquat produjo un efecto hormético sobre el aumento del área foliar en *Phaseolus vulgaris* L., puesto que se evidenció un estímulo en los valores del Índice de Área Foliar –IAF– utilizado como parámetro biológico en el estudio.
- 10.2 El hecho de que la respuesta hormética satisfizo ambas características, cualitativas y cuantitativas inherentes al fenómeno hormético, y que ésta mostrara un poder estadístico significativo, demuestra que la dosis-respuesta evidenciada fue debida a una estimulación real y no producto de la variación normal en el parámetro biológico utilizado.
- 10.3 El uso del IAF como indicador de la superficie asimiladora en *Phaseolus vulgaris* L., influyó en la calificación de la respuesta de estimulación hormética como del tipo débil-moderada, puesto que sus valores de respuesta reflejaron un promedio entre los parámetros geométricos medidos, condición que dificultó el registro de incrementos significativos en la magnitud del área fotosintetizante.
- 10.4 No obstante al hecho de determinar previamente el NOEL y evaluar diversas concentraciones del herbicida Paraquat por debajo de este umbral toxicológico, no se evidenció un tipo de curva beta ( $\beta$ ), sino un tipo de curva delta ( $\delta$ ) como patrón de dosis-respuesta en el estudio, la cual mantuvo una magnitud de estimulación ligeramente por encima de los valores del grupo control.
- 10.5 A partir de los datos generados en el estudio, no fue posible definir un rango de estimulación máxima de hormesis, puesto que el patrón de dosis respuesta obtenido mostró dosis inhibitoras de la respuesta hormética aún por debajo del NOEL, lo que dificultó la existencia de respuestas con magnitudes afines que permitieran definir

este rango. A pesar de ello es posible definir la dosis de  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  como la dosis de Paraquat que produjo la estimulación máxima de hormesis en el IAF.

- 10.6 En términos globales, la información evidenciada en el estudio no es lo suficientemente consistente para respaldar la implementación de alguna de las dosis subletales de Paraquat para el mejoramiento del cultivo de *Phaseolus vulgaris* L., sin embargo, desde el punto de vista biológico, los datos encierran un potencial importante como base científica en la búsqueda de nuevas dosis apropiadas de herbicida para este fin.
- 10.7 En base a los datos obtenidos en el presente estudio es posible reconocer el impacto e importancia del fenómeno hormético en el mejoramiento de las respuestas fisiológicas en plantas y su potencial en el mejoramiento de la producción de los cultivos, por lo que es necesario realizar mayor investigación concerniente a la evaluación de los efectos de dosis subletales de herbicidas, a manera de implementar este fenómeno biológico en el cultivo de *Phaseolus vulgaris* L. en Guatemala.

## 11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Reestructurar la evaluación hormética del presente estudio focalizándola al primer intervalo de la zona hormética identificada  $-10$  a  $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ – la cual contuvo la única dosis estadísticamente significativa en el estudio. Esta afinación de concentraciones ayudará a evaluar con mayor detalle el fenómeno hormético debido a la adición de dosis subletales de Paraquat en *Phaseolus vulgaris* L.
- 11.2 Evaluar el efecto de hormesis del herbicida Paraquat sobre el rendimiento en *Phaseolus vulgaris* L.; analizando la cantidad de granos por vaina producida. Esto ayudará y contribuirá al conocimiento del potencial hormético que poseen los herbicidas sobre el mejoramiento de los cultivos, especialmente en Guatemala donde existen escasos estudios acerca del tema.
- 11.3 Aplicar el contexto temporal al estudio del efecto hormético de herbicidas en plantas, es decir, evaluar la relación de la respuesta debida a la dosis-tiempo, con el fin de evidenciar un efecto estimulador en cualquier momento durante el restablecimiento de la condición homeostática del sistema, a fin de evaluar el efecto de hormesis debida a herbicidas de una manera directa.

## 12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta, E., Acosta-Gallegos, J., Amador, M. & Padilla, J. (2008). Relación entre el índice de área foliar y rendimiento en frijol bajo condiciones de secano. *Agricultura Técnica en México*, 34(1), 13-20.
2. Acosta-Gallegos, J. & Adams, M. (1991). Plant traits and yield stability of dry bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars under drought stress. *Journal of Agricultural Science*, 117, 213-219.
3. Allen, H., Downes, J., Mees, G. & Springett, R. (1978). Selective herbicides. In: *Fifty years of Agricultural Research (1928-1978)* (pp. 35-41). Birmingham: The Kynoch Press.
4. Appleby, A. (1998). The practical implications of hormetic effects of herbicides on plants. *Human & Experimental Toxicology*, 17, 270-271.
5. Belz, R. (2008). Stimulation versus inhibition-bioactivity of parthenin, a phytochemical from *Parthenium hysterophorus*, L. *Dose-Response*, 6, 80-96.
6. Belz, R. & Cedergreen, N. (2010). Parthenin hormesis in plants depends on growth conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 69, 293-301.
7. Belz, R., Hurle, K. & Duke, S. (2005). Dose-response - a challenge for allelopathy? *Nonlinearity in Biology, Toxicology and Medicine*, 3, 173-211.
8. Belz, R., Reinhard, C., Foxcroft, L. & Hurle, K. (2007). Residue allelopathy in *Parthenium hysterophorus*, L. –does parthenin play a leading role? *Crop Protection*, 26, 237-245.

9. Brown, R., Rundle, S., Hutchinson, T., Williams, T. & Jones, M. (2003). A copepod life-cycle test and growth model for interpreting the effects of lindane. *Aquatic Toxicology*, 63, 1-11.
10. Calabrese, E. (1999). Evidence that hormesis represents an “overcompensation” response to a disruption in homeostasis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 42, 135-137.
11. Calabrese, E. (2001). Overcompensation stimulation: A mechanism for hormetic effects. *Critical Reviews in Toxicology*, 31(4-5), 425-470.
12. Calabrese, E. (2005). Cancer biology and hormesis: Human tumor cell lines commonly display hormetic (biphasic) dose responses. *Critical Reviews in Toxicology*, 35, 463-562.
13. Calabrese, E. (2008). Hormesis: Why it is important to toxicology and toxicologist. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(7), 1451-1427.
14. Calabrese, E. (28 abril 2010). Comunicación personal.
15. Calabrese, E. & Baldwin, L. (1997a). The dose determines the stimulation (and poison): Development of a chemical hormesis database. *International Journal of Toxicology*, 16, 545-559.
16. Calabrese, E. & Baldwin, L. (1997b). A quantitatively-based methodology for the evaluation of chemical hormesis. *Human and Ecological Risk Assessment*, 3(4), 545-554.
17. Calabrese, E. & Baldwin, L. (1998). Hormesis as a biological hypothesis. *Environmental Health Perspectives*, 106, 357-362.

18. Calabrese, E. & Baldwin, L. (1999a). Chemical hormesis: It's historical foundations as a biological hypothesis. *Toxicologic Pathology*, 27(2), 195-216.
19. Calabrese, E. & Baldwin, L. (1999b). The marginalization of hormesis. *Toxicologic Pathology*, 47(2), 187-194.
20. Calabrese, E. & Baldwin, L. (2000). Radiation hormesis: its historical foundations as a biological hypothesis. *Human & Experimental Toxicology*, 19, 41-75.
21. Calabrese, E. & Baldwin, L. (2002). Defining hormesis. *Human & Experimental Toxicology*, 21, 91-97.
22. Calabrese, E. & Blain, R. (2005). The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 202, 289-301.
23. Calabrese, E. & Blain, R. (2009). Hormesis and plant biology. *Environmental Pollution*, 157, 42-48.
24. Cedergreen, N. (2008). Herbicides can stimulate plant growth. *Weed Research*, 48, 429-238.
25. Cedergreen, N. & Andresen, M. (2010). Plant growth is stimulated by tea-seed extract: A new natural growth regulator? *HortScience*, 45(11), 1-6.
26. Cedergreen, N., Felby, C., Porter, J. & Streibig, J. (2009). Chemical stress can increase crop yield. *Field Crops Research*, 114, 54-57.
27. Cedergreen, N. Ritz, C. & Streibig, J. (2005). Improved empirical models describing hormesis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, 3166-3172.

28. Cedergreen, N., Streibig, J., Kudsk, P., Mathiassen, S. & Duke, S. (2007). The occurrence of hormesis in plants and algae. *Dose-Response*, 5, 150-162.
29. Cedergreen, N., Streibig, J. & Splid, N. (2004). Species specific sensitivity of aquatic macrophytes towards herbicides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58, 314-323.
30. Coler, R., Coler, R., Felizardo, E. & Watanabe, T. (2005). Applying weight gain in *Pomacea lineata* (SPIX 1824) (Mollusca: Prosobranchia) as a measure of herbicide toxicity. *Brazilian Journal of Biology*, 65(4), 617-623.
31. Díaz, G., Calabrese, E. & Blain, R. (2008). Aflatoxicosis in chickens (*Gallus gallus*): An example of hormesis? *Poultry Science*, 87, 727-732.
32. Duke, S., Cedergreen, N., Edivaldo, V. & Belz, R. (2006). Hormesis: Is it an important factor in herbicide use and allelopathy? *Outlooks on Pest Management*, 17(1), 29-33.  
  
“Alle ding sind gift und nichts ohn gift. Allein die dosis macht das ein ding kein gift ist”. Traducción del autor.
33. Forbes, V. (2000). Is hormesis an evolutionary expectation? *Functional ecology*, 14, 12-24.
34. Henschler, D. (2006). The origin of hormesis: Historical background and driving forces. *Human & Experimental Toxicology*, 25, 347-351.
35. Hessayon, D. (1953). Fungitoxins in the soil: II. Trichothecin, its production and inactivation in unsterilized soils. *Soil Science*, 75(5), 395-404.
36. Hulbert, S. (1984). Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological Monographs*, 54(2), 187-211.

37. Ingram, L. & Fisher, W. (1973a). Stimulation of cell division by croton oil in blue-green bacteria. *Journal of Bacteriology*, 114(2), 874-875.
38. Ingram, L. & Fisher, W. (1973b). Stimulation of cell division by membrane active agents. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 50, 200-210.
39. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA–. (1996). *ICTA Ligerito: Nueva variedad de frijol negro: Precoz y resistente al mosaico dorado*. Recuperado de [http://www.icta.gob.gt/fpdf/recom /g\\_basicos/ICTALigerito.pdf](http://www.icta.gob.gt/fpdf/recom/g_basicos/ICTALigerito.pdf)
40. Johnson, E. (1928). Growth and germination of sunflowers as influenced by X rays. *American Journal of Botany*, 15, 65-76.
41. Johnson, E. (1931). Effect of X radiation upon growth and reproduction of tomato. *Plant Physiology*, 6, 685-694.
42. Kozlowski, T. & Kramer, P. (1979). *Physiology of woody plants*. New York: Academic Press.
43. Leopold, A. & Kriedemann, P. (1975). *Plant growth and development*. New York: McGraw-Hill.
44. Loefer, J., Bieberdorf, F. & Weichlein, R. (1952). Inhibition and enhancement of the growth of fungi with streptomycin. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 79(3), 242-250.
45. Long, T. & Kersten, H. (1936). Stimulation of growth of soy bean seeds by soft X rays. *Plant Physiology*, 11, 615-621.
46. Martindale, W. & Trewavas, A. (2008). Fuelling the 9 billion. *Nature Biotechnology*, 26, 1068-1069.

47. McDonald, L., Morgan, T. & Jackson, P. (2001). The effect of ripeners on the CCS or 47 sugarcane varieties in the burdekin. *Proceedings of the Australian Society of Sugar Cane Technologist*, 23, 102-108.
48. Murchie, E., Pinto, M. & Horton, P. (2009). Agriculture and the new challenges for photosynthesis research. *New Phytologist*, 181, 532-552.
49. Nelson, A., Renner, K. & Hammerschmidt, R. (2002). Effects of protoporphyrinogen oxidase inhibitors on soybean (*Glycine max*, L.) response, *Sclerotinia sclerotiorum* disease development, and phytoalexin production by soybean. *Weed Technnology*, 16, 353-359.
50. Parsons, P. (2000). Hormesis: An adaptive expectation with emphasis on ionizing radiation. *Journal of Applied Toxicology*, 20, 103-112.
51. Parsons, P. (2003). Metabolic efficiency in response to environmental agents predicts hormesis and invalidates the linear no-threshold premise: Ionizing radiation as a case study. *Critical Reviews in Toxicology*, 33, 443-449.
52. Pierik, R., Tholen, D., Poorter, H., Visser, E. & Voesenek., L. (2006). The Janus face of ethylene: Growth inhibition and stimulation. *Trends in Plant Science*, 11, 176-183.
53. Rattan, S. (2001). Applying hormesis in aging research and therapy. *Human & Experimental Toxicology*, 20, 281-285.
54. Rattan, S. (2004). Aging intervention, prevention, and therapy though hormesis. *Journal of Gerontology*, 59A(7), 705-709.
55. Salisbury, F. y Ross, C. (1994). *Fisiología vegetal*. México: Editorial Iberoamérica.

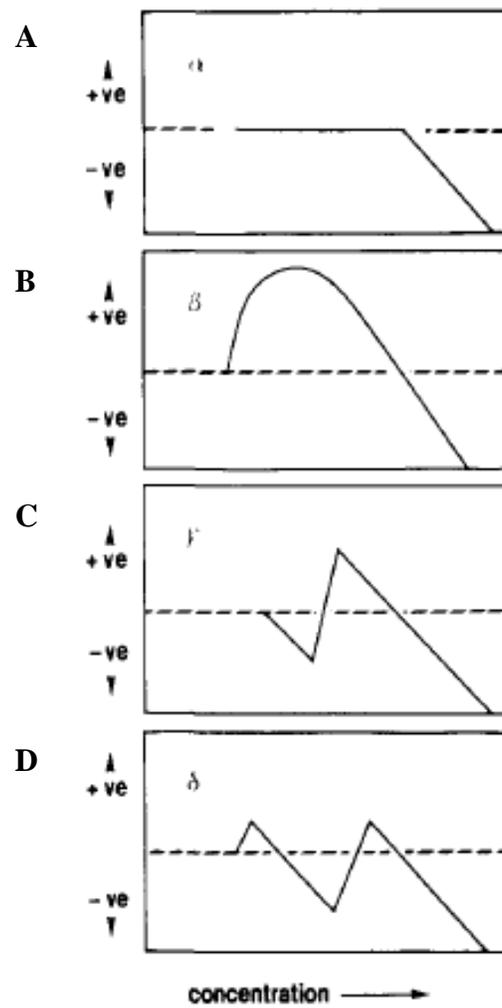
56. Sandifer, R. & Hopkin, S. (1997). Effects of temperature on the relative toxicities of Cd, Cu, Pb and Zn to *Folsomia candida* (Collembola). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 37, 125-130.
57. Schabenberger, O., Tharp, B., Kells, J. & Penner, D. 1999. Statistical test for hormesis and effective dosages in herbicide dose response. *Agronomy Journal*, 91, 713-721.
58. Schulz, H. (1887). Zur lehre von der arzneiwirdung. *Virchows Arch. F. Pathol. U. Physiol*, 108, 423-445.
59. Schulz, H. (1888). Uber hefegifte. *Pfluegers Arch. Gesamte. Physiol*, 42, 517-541.
60. Shull, C. & Mitchell, J. (1933). Stimulative effects of x rays on plant growth. *Plant Physiology*, 8, 287-296.
61. Southam, C. & Ehrlich, J. (1943). Effects of extracts of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture. *Phytopathology*, 33, 517-524.
62. Stebbing, A. (1982). Hormesis- the stimulation of growth by low levels of inhibitors. *The Science of the Total Environment*, 22, 213-234.
63. Strbac, V., Ayers, G. & Ries, S. (1974). The protein fractions in chemically induced high-protein wheat seed. *Cereal Chemist*, 51, 316-326.
64. Townsend, J. & Luckey, T. (1960). Hormoligosis in pharmacology. *Journal of the American Medical Association*, 173(1), 44-48.
65. Velini, E., Alves, E., Godoy, M., Meschede, D., Souza, R. & Duke, S. (2008). Glyphosate applied at low doses can stimulate plant growth. *Pest Management Science*, 64, 489-496.

66. Virchow, R. (1854). Über die erregbarkeit der flimmerzellen. *Virch Arch*, 6, 133-34.
67. Wagner, R., Kogan, M. & Parada, M. (2003). Phytotoxic activity of root absorbed glyphosate in corn seedlings (*Zea mays* L.). *Weed Biology and Management*, 3, 228-232.
68. Wiedman, S. & Appleby, A. (1972). Plant growth stimulation by sublethal concentrations of herbicides. *Weed Research*, 12, 65-74.

## 13. ANEXOS

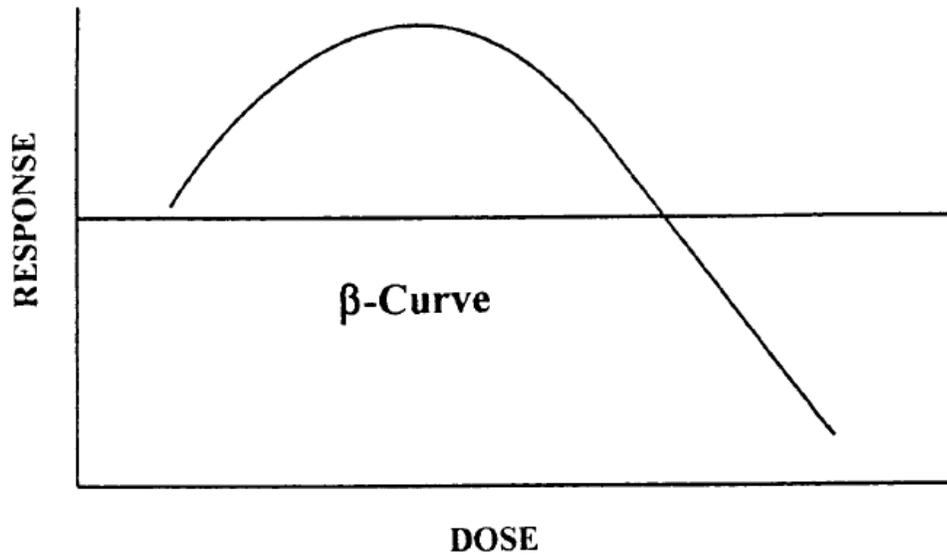
## Anexo 1

Tipos de curvas de dosis-respuesta evidenciadas hasta la fecha de las cuales la mayormente observada en hormesis es la curva  $\beta$  (B) (Fuente: Stebbing, 1982).



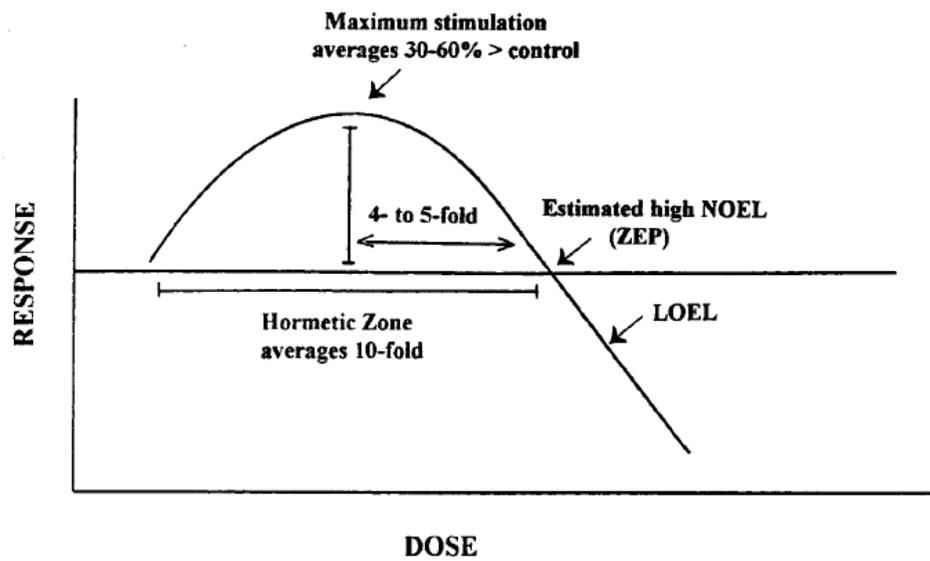
## Anexo 2

Curva  $\beta$  en forma de U invertida, exhibiendo un único pico estimulador debida a las dosis subletales (Fuente: Calabrese & Baldwin, 1997a)



## Anexo 3

Características cuantitativas de la curva  $\beta$  de dosis-respuesta (Fuente: Calabrese & Baldwin, 1997a)



Nombre común y químico de herbicidas (Fuente: Wiedman & Appleby, 1972)

<b>Herbicida</b>	<b>Nombre Químico</b>
Barban	4-clorobut-2-inil 3-clorocarbanilato
Bromacilo	5-Bromo-3-sec-butil-6-metiluracilo
Bromoxinil	3,5-dibromo-4-hydroxybenzocitrilo
Clorambén	3-ter-Butil-5-cloro-6-metiluracilo
Dalapon	Ácido 2,2-dicloropropiónico
Diuron	3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea
EPTC	Dipropilo del S-etilo (thiocarbamate)
Ethrel	Acido-2-cloroetil-fosfónico
Fusilade	Butil (R)-2-[4-((5-(trifluoro-metil)-2-piridinil)oxi)fenoxi]propanoato.
MCPA	Sal dimetilamina del ácido 2-metil-4-clorofenoxiacético
MSMA	Sal monosódica del ácido metilarsónico
Paraquat	Dicloruro de 1,1'-dimetil- 4,4'-bipiridilo
Propacloro	N-isopropil-N-fenil-2-cloroacetamida
Simazina	6-cloro-N <sub>2</sub> ,N <sub>4</sub> -dimetil-1,3-triazina-2,4-diamina
Terbacilo	3-ter-Butil-5-cloro-6-metiluracilo
Trifluralina	$\alpha,\alpha,\alpha$ -Trifluoro-2,6-dinitro-N,N-dipropil-p-toluidina
Verdict	R-(+)-metil-2-(4-((3-cloro-5-(trifluorometil)-2-piridinil)oxi)fenoxi)propanoato

## Anexo 5

Resumen de los criterios utilizados con valoración asignada utilizados en la evaluación cuantitativa de hormesis (Calabrese & Blain, 2005)

Study design criteria			
Doses below NO(A)EL ( <i>n</i> )	Point value	NO(A)EL determined	Point value
1	1	Yes	1
2	2	No	0
3	3	–	–
4	4	–	–
≥5	5	–	–

Response criteria			
Doses statistically significant ( <i>n</i> )	Point value	Reproducibility	Point value
1	2	Yes	3
2	4	No	0
3	8	–	–
≥4	16	–	–

Magnitude of response (percentage control value)		
Inverted U-shaped curve	J-shaped curve	Point value <sup>a</sup>
≥100% ≤ 125%	≤97% ≥ 92%	0.5
> 125% ≤ 150%	<92% ≥ 84%	1
> 150% ≤ 200%	<84% ≥ 68%	2
> 200% ≤ 400%	<68% ≥ 5%	3
> 400%	<5%	4

## Anexo 6

Resumen de los rangos de punteo para las categorías de evidencia hormética usadas en la evaluación cuantitativa de estudios con evidencia de hormesis (Calabrese & Blain, 2005)

Total point range	Hormesis evidence category
1–2	No–low
>2–8	Low
>8–12	Low–moderate
>12–16	Moderate
>16–20	Moderate–high
>20	High



---

**Br. Allan Estuardo Urbizo Herrera**  
Autor



---

**M. A. Carlos Salazar**  
Asesor



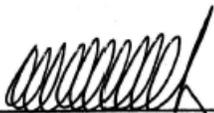
---

**M. Sc. Carolina Rosales de Zea**  
Revisora



---

**Sergio Melgar, Ph. D.**  
Director  
Escuela de Biología



---

**Oscar Cobar, Ph. D.**  
Decano  
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia