

Acción Fisiológica del Acido 2,4-Diclorofenoxiacético

POR

OSVALDO A. FERNANDEZ ¹

A pesar del importante desarrollo que ha tenido en los últimos años la producción de los nuevos herbicidas auxínicos y su extensivo uso en agricultura, la síntesis y aplicación de estos compuestos es todavía en cierto modo empírica.

Los estudios fisiológicos desempeñan una parte importante en la interpretación de la acción de los herbicidas. El avance en el uso y aplicación de los mismos será incrementado cuando se comprendan más cabalmente los principios de su acción reguladora o tóxica.

Dadas las muchas aplicaciones prácticas que han sido descubiertas para el ácido 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) numerosos investigadores han tratado de encontrar la relación que puede existir entre la aplicación del 2,4-D a las plantas y la reacción fisiológica de las mismas, demostrada por procesos tales como producción de raíces adventicias, formación de agallas, fructificación, inhibición del crecimiento y en general alteración de los procesos metabólicos, en grado tal, que pueden determinar la muerte del vegetal.

La selectividad del 2,4-D es en su mayor parte un fenómeno no muy bien explicado, algunos especies son muy susceptibles, otras en cambio son más o menos resistentes.

El presente trabajo tiene por objeto reunir varios de los estudios que se refieren a la acción fisiológica del 2,4-D en forma tal que sus conclusiones formen un cuadro relativamente completo del problema. Se ocupa en particular de la acción del 2,4-D sobre los siguientes procesos: nutrición mineral, fotosíntesis, metabolismo de los carbohidratos, fósforo, nitrógeno y proteínas, respiración y mitocondrias.

¹ Jefe de Trabajos Prácticos, de la Cátedra de Fisiología Vegetal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad de Buenos Aires.

Nutrición mineral.

Varios investigadores han encontrado una relación entre la aplicación del 2,4-D y la composición química de la planta. El herbicida parece afectar la distribución de minerales y la absorción de estos desde el suelo. Wolf (26) y colab. observaron que el contenido de potasio era considerablemente menor y el de calcio era más elevado en las hojas de plantas tratadas con 2,4-D, pero cuando los resultados del análisis de las hojas se combinaron con los obtenidos para el tallo, dichas diferencias desaparecieron. Observaron también que el contenido de fósforo era más bajo en las plantas tratadas que en las testigo. Fang y Butts (4) manifiestan que el contenido de fósforo en las hojas de plantas pulverizadas con 2,4-D fue menor que el correspondiente a aquellas que no lo habían sido; las proporciones de este elemento en los tallos y raíces no mostraron variaciones importantes. Rebstock (19) y colab. hallaron que el tratamiento con 2,4-D puede determinar, asimismo, una mayor concentración de fósforo en los tejidos del tallo. Alteraciones similares fueron halladas por Wildor (25) y colab. en plántulas de tabaco. Las partes aéreas de éstas presentaron un menor porcentaje de potasio, sodio y fósforo, pero una mayor concentración de calcio en las raíces con respecto a las partes aéreas.

Cooke (3) estudió la absorción de iones marcados en plantas pulverizadas con 2,4-D. El efecto inmediato fue un aumento inicial del proceso de absorción, seguido a corto plazo por la inhibición del mismo. Considera el autor que estos resultados deben estar relacionados a una acción primaria del 2,4-D sobre la respiración. Posiblemente las cantidades del herbicida que llegan inicialmente a las raíces son suficientemente pequeñas como para ejercer una acción estimulante sobre la intensidad del proceso respiratorio, lo cual se traduciría en un aumento de la absorción; sin embargo cuando cantidades mayores del compuesto son transportadas desde las hojas al sistema radicular, la actividad respiratoria puede disminuir y por consiguiente también la absorción de iones.

Nance (16) estudió la acción del 2,4-D sobre la absorción de iones en trozos de raíces de trigo. Observó que una concentración de 10 ppm producía una reducción en la absorción de nitratos en el término de de tres horas. El autor sostiene que esta es probablemente una acción directa del herbicida sobre el mecanismo de acumulación, y no un efecto secundario que seguiría a una alteración general del metabolismo de la raíz. Concentraciones tan bajas como 0,1 ppm proporcionaron resultados similares. Los resultados obtenidos usando cloruro de potasio in-

dicaron que la inhibición del proceso de acumulación en las raíces no se limitaba a los nitratos. La acción inhibitoria del 2,4-D podría estar asociada a una reducción parcial de la actividad respiratoria. Ha sido también postulado que podría existir una falta de acoplamiento entre los procesos de oxidación y fosforilación.

Blackman (2) resume el problema de la acción del 2,4-D sobre la absorción de iones afirmando que los resultados pueden ser divergentes cuando se investiga en especies distintas, y que los cambios en el contenido mineral pueden ser debidos a una acción directa del herbicida sobre el proceso de absorción o bien a una acción indirecta que resultaría de la inhibición del crecimiento.

Fotosíntesis.

Una de las primeras respuestas observada en las plantas por aplicaciones de 2,4-D fue una disminución de la actividad fotosintética. Esta podría estar asociada a una acción directa del 2,4-D sobre el proceso en sí mismo o bien ser debida al comportamiento de los estomas (7). Más tarde Akers y Fang (1) observaron que plantas tratadas con 2,4-D absorbían menos carbono marcado que las plantas testigo.

Weeding (23) y colab. demostraron que la inhibición del proceso de la fotosíntesis se halla relacionado con la concentración de moléculas de 2,4-D no disociadas. Estas serían las que poseerían la capacidad de penetrar y representarían la forma activa del compuesto. El proceso inhibitorio se desarrollaría en dos etapas, la primera sería una inhibición acentuada debida a concentraciones bajas de ácido no disociado, proporcional al logaritmo de las mismas; la segunda debida a concentraciones más elevadas sería proporcional a la concentración de 2, 4-D no disociado, y se cree que podría resultar de una destrucción directa o indirecta de la clorofila.

Carbohidratos.

Una de las particularidades del 2,4-D es su habilidad para ser translocado en las plantas ejerciendo su acción en tejidos alejados del lugar de penetración. Esta característica se halla relacionada con la presencia de azúcares y en general del movimiento de los compuestos orgánicos. Las experiencias realizadas por Mitchell y Brown (15) mostraron que el 2,4-D no era transportado desde las hojas de plantas de poroto cuyo contenido en azúcares era bajo. Garren y Remmart (9) sustentan también que el transporte de 2,4-D se encuentra condicionado al movimiento de los compuestos orgánicos, especialmente carbohidratos y derivados, pero agregan que al mismo tiempo el proceso de transloca-

ción en sí mismo sería un retardo en la acumulación de glúcidos y de materia seca producida.

Humphreys y Dugger (11) estudiaron la acción del 2,4-D sobre el catabolismo de la glucosa vía ciclo de las pentosas y separadamente por el ciclo glucolítico. Usaron para ello ápices de raíz de plántulas de poroto, maíz y avena, a algunas de las cuales se les eliminaron los órganos de reserva. Observaron que en todos los casos se producía un aumento de la cantidad de glucosa catabolizada por el ciclo de las pentosas. El catabolismo por la vía glucolítica en las raíces de aquellas plantas privadas de los cotiledones no fue mayormente alterado. En las plántulas intactas los resultados difieren, las raicillas de porotos mostraron una disminución de su actividad metabólica, mientras que, los resultados para maíz y avena fueron variables. Los autores sugieren que la acción del 2, 4-D sobre el catabolismo de la glucosa por vía glucolítica se halla controlado de alguna manera en las plantas de porotos por el nivel de reservas de las mismas.

También Fang (5) y colab. se ocuparon del estudio del metabolismo de la glucosa en plantas tratadas con 2,4-D. Trabajaron basados en la hipótesis de que el 2,4-D afecta el crecimiento de los tejidos al alterar la forma de utilización de la glucosa. Observaron en tejidos de tallo de plántulas de poroto, que la utilización de la glucosa suministrada expresada por la relación glucosa usada para síntesis/glucosa usada para respiración fue alterada para los tejidos tratados con 2,4-D. La cantidad de glucosa incorporada por los tejidos llegó a triplicarse y aumentó el catabolismo de la misma por vía glucolítica. Se obtuvieron pruebas de que los pasos sucesivos que a partir de la glucosa conducen a la síntesis de compuestos celulares más complejos no fueron alterados por la presencia del herbicida.

Fósforo.

Ha sido sugerido por distintos investigadores que un centro importante de la acción del 2,4-D podría residir en el metabolismo del fósforo Fang y Butts (4) observaron que el tratamiento con 2,4-D reducía el movimiento de fósforo hacia las hojas y ocasionaba una alteración de la distribución y acumulación de este elemento en plantas de poroto. Rebstock (19) y colab., trabajando también con plantas de poroto, confirmaron los resultados de Fang y Butts y observaron además una duplicación del contenido de ácido nucleico en los tejidos del tallo. Estas variaciones en el contenido de ácido nucleico podrían dar una clave sobre el crecimiento y desarrollo anormal que sigue a tratamientos con 2,4-D.

Ormond y Williams (17) analizaron el contenido de fósforo de plantas de poroto un minuto después de haber sido tratadas con 2,4-D. Encontraron marcadas alteraciones en el contenido de fósforo orgánico e inorgánico, lo que indicaría una acción inmediata de la auxina sobre las enzimas que intervienen en los procesos de fosforilación. Destacan los autores que estando el fósforo intimamente relacionado a la síntesis y degradación de los glúcidos, las alteraciones observadas en el contenido de éstos por la presencia del 2,4-D, podrían ser debidas a su acción directa sobre algunas de las enzimas que intervienen en el metabolismo de los glúcidos y de utilización del fósforo.

Nitrógeno y proteínas.

La acción del 2,4-D sobre las proteínas y otras sustancias nitrógenadas ha preocupado a varios investigadores. Wolf (26) y colab. trabajando con plantas de soja creciendo en distintos niveles de nitrógeno, observaron una definida interacción entre la concentración de este elemento y la acción del 2,4-D agregado al medio en que crecían las mismas. Las plantas que se desarrollaban en un medio rico en nitrógeno murieron rápidamente, mientras que, aquellas que lo hacían en niveles medio y bajo fueron afectadas con intensidad menor. Proporciones elevadas de nitrógeno tienden a producir plantas con abundancia de meristemas y tejidos jóvenes y por lo tanto de mayor susceptibilidad al herbicida. Es interesante destacar que el contenido de fósforo, azufre y nitrógeno de las plantas que crecieron con abundancia de nitrógeno, fue menor que el de aquellas que lo hicieron en niveles medio y bajo. Aparentemente, dado el alto contenido de carbohidratos utilizables, la muerte de las plantas no puede ser explicada por un agotamiento de las reservas alimenticias.

Freiberg y Clark (8) agregaron 2,4-D a la solución nutritiva en que crecían plantas de soja. Analizaron las relaciones entre el contenido de proteínas de los distintos órganos de las plantas con los cambios de actividad de las enzimas proteolíticas y la distribución de nitrógeno orgánico soluble. El tratamiento no ocasionó cambios importantes en el contenido de nitrógeno total, pero en cambio el nitrógeno proteico en las hojas fue más bajo que el correspondiente a tallos y raíces. Asimismo, tallos y raíces mostraron un marcado aumento del nitrógeno orgánico soluble. El estudio de la actividad proteolítica mostró que proteinasas y peptidasas fueron afectadas en forma similar para un tejido dado, registrándose una disminución de actividad en las hojas y un aumento en los tallos y raíces. Sostienen los autores que la mayor actividad

meristemática de los tallos y las raíces, como una consecuencia del tratamiento, se traduciría en un aumento del contenido de proteínas y de la actividad de proteinasas y peptidasas.

La composición de los aminoácidos que forman la proteína cruda de plantas tratadas con 2,4-D se vió que era diferente de la que se encontraba en plantas no tratadas. Payne (18) y colab. usando tubérculos de papa encontraron que el 2,4-D producía un aumento en el ácido glutámico libre y una disminución en once aminoácidos, incluyendo el ácido aspártico. Estas disminuciones fueron explicadas como debidas a un aumento en el catabolismo de los aminoácidos libres. Akers y Fang (1) observaron que la cantidad de ácido aspártico y glutámico disminuía en los tallos y las raíces de plantas tratadas con 2,4-D y 2,4,5-T. Se consideró que ello era debido a la inhibición de la síntesis de estos aminoácidos o bien a un aumento de la oxidación de los mismos. En experiencias posteriores usando C^{14} vieron que la proporción de carbono marcado incorporado a los ácidos glutámico y aspártico fue tres o cuatro veces mayor en las plantas tratadas. Ello llevaría a concluir que la velocidad de síntesis de estos dos aminoácidos ha sido aumentada; sin embargo, la cantidad total de los mismos, fue ostensiblemente menor. Consideran los autores que el tratamiento con 2,4-D afectó la síntesis y la oxidación o catabolismo de estos dos aminoácidos al mismo tiempo, siendo la velocidad de oxidación superior al incremento en la velocidad de síntesis.

West (24) y colab. realizaron estudios sobre el metabolismo de las nucleoproteínas en plantas que se encuentran creciendo bajo la influencia del 2,4-D. Dichos estudios indicarían que el metabolismo de los nucleótidos es profundamente afectado por el herbicida. Concentraciones elevadas de 2,4-D en plántulas de pepino incrementaron la cantidad de ácido ribonucleico y proteínas en los tejidos del tallo, concentraciones bajas tendrían un efecto contrario. El papel que corresponde a los nucleótidos en los procesos bioquímicos y fisiológicos sugiere una forma por la cual el 2,4-D puede producir tan diversas alteraciones en el vegetal.

Respiración y mitocondrias.

Un aspecto que ha merecido especial atención por parte de varios investigadores es el estudio de la acción del 2,4-D en las plantas y su interferencia con la normal actividad enzimática respiratoria. Felber (6) encontró un considerable aumento de peroxidasa en tejidos que se encuentran proliferando activamente debido a la acción del 2,4-D. Hsueh (10) y colab. observaron que semillas tratadas con 2,4-D en concentra-

ciones relativamente elevadas (0,1 %) germinaban deficientemente. La medición de los intercambios gaseosos mostró una inhibición parcial de la respiración aeróbica, con un consumo bajo de oxígeno y una elevada producción de anhídrido carbónico. Aparentemente las semillas tratadas no pueden utilizar en forma eficiente el oxígeno del aire y el proceso respiratorio normal sería reemplazado por otro de fermentación. Este resultado es similar al que se observa en semillas germinando en un medio de baja concentración de oxígeno (21). Es interesante destacar que las semillas de arroz que se hallan provistas de un mecanismo respiratorio anaeróbico, que les permite obtener energía para germinar aún en ausencia de oxígeno, toleraron concentraciones de 2,4-D que fueron inhibitorias para semillas típicamente aeróbicas.

Las investigaciones de Humphreys y Dugger (13) muestran que plántulas de poroto privadas de los cotiledones, al ser colocadas en soluciones de 2,4-D consumían dos veces más oxígeno que las plantas testigo. La presencia del herbicida no modificó el coeficiente respiratorio, el cual permaneció alrededor de uno, lo que indicaría que tanto las plántulas tratadas como las testigo utilizaron carbohidratos como fuente primaria de energía. Estudios adicionales con ápices de raíces indicaron que el aumento de la actividad respiratoria sería debido a una mayor proporción de glucosa catabolizada vía ciclo de las pentosas.

En años recientes se han acumulado pruebas indicadoras de que las enzimas relacionadas con la respiración y fosforilación se hallan ubicadas en las mitocondrias. Switzer (20) demostró una inhibición general del sistema enzimático respiratorio de las mitondrias por acción del 2,4-D y otros herbicidas. De todos los productos químicos ensayados en sistemas "in vitro", aquellos que se caracterizan por su acción como reguladores del crecimiento en plantas o tejidos intactos, fueron los de mayor acción inhibitoria.

Key (14) y colab. mediante el uso del microscopio electrónico observaron que pulverizaciones con 2,4-D en plantas de soja pueden inducir el crecimiento de las mitocondrias. Este crecimiento se manifiesta por un aumento del tamaño y de la actividad de las partículas. Se observó un aumento de las propiedades oxidativas y fosforilativas, como asimismo, una mayor cantidad de fosfolípidos y nucleótidos. El crecimiento de las mitocondrias, sin embargo, está confinado a tejidos que se encuentran creciendo, aunque en forma anormal, como resultado de la aplicación del 2,4-D. Aquellos tejidos que se encuentran inhibidos en su desarrollo poseen mitocondrias de actividad reducida. La acción del 2,4-D sobre las mitocondrias podría explicar los aumentos de la respiración observados en tejidos afectados por el 2,4-D.

RESUMEN

Es aparente que el mecanismo de la acción del 2,4-D en los vegetales representa un problema muy complejo. Las experiencias llevadas a cabo por numerosos investigadores aumentan nuestro conocimiento de la acción del 2,4-D sobre las plantas.

Las evidencias de la acción primaria del 2,4-D y los fundamentos fisiológicos de su selectividad son problemas que quedan aún por ser elucidados.

1. El 2, 4-D afecta la distribución de los elementos minerales en el vegetal y la absorción de éstos desde el suelo. En general se observa una disminución del proceso de absorción, con magnitudes diferentes de inhibición para cada elemento en particular y para diferentes especies.
2. El 2,4-D disminuye la velocidad de fotosíntesis. La inhibición parece ser proporcional a la concentración de 2,4-D no disociado en la solución externa. La acción del herbicida sobre la clorofila podría ser una causa de la disminución de la intensidad del proceso.
3. El transporte de 2,4-D en las plantas se encuentra asociado a la presencia de glúcidos. El metabolismo de éstos parece ser afectado, verificándose un aumento de la cantidad de glucosa catabolizada.
4. El 2,4-D determina una alteración de la forma de utilización y distribución del fósforo al actuar sobre las enzimas que intervienen en los procesos de fosforilación.
5. El metabolismo del nitrógeno es profundamente afectado por la presencia del 2,4-D. Las proteínas son hidrolizadas en las hojas y transportaban al tallo y a la raíz donde serían resintetizadas. La concentración de ácido ribonucleico puede aumentar para un tejido determinado. Existen pruebas de un aumento de la velocidad de oxidación y catabolismo de los aminoácidos.
6. El herbicida puede ocasionar cambios en la respiración de las plantas, que se pueden traducir en un aumento o en una disminución de la intensidad del proceso. En sistemas "in vitro" el 2,4-D inhibió las propiedades fosforilativas y oxidativas de las mitocondrias. Pulverizaciones con 2,4-D inducen el crecimiento de las mitocondrias con activación de los procesos de fosforilación y oxidación, observándose asimismo, una mayor proporción de fosfolípidos y nucleótidos.

SUMMARY

From the foregoing consideration of the action of 2,4-D on plants it is apparent that the problems are complex. Although the mechanism by which 2,4-D acts on plants have not been elucidated, several lines of investigation have been shown. The site of the primary 2,4-D action is rather a matter of personal preference, even though evidences of chemical action are good, the studies are still not conclusives.

1) It is general assumed that 2,4-D cause an inhibition of the mineral uptake, presenting different magnitudes of inhibition for individual elements by different species.

2) The 2,4-D inhibits the rate of photosynthesis. The inhibition seems to be proportional to the concentration of undissociated 2,4-D in the external solution. A direct or indirect destruction of chlorophyll synthesis by 2,4-D action could be the cause of the decrease of photosynthesis.

3) Translocation of 2,4-D is associated with the presence of carbohydrates. Seems to be an active participation of the herbicide in the pentose cycle pathway of glucose catabolism.

4) Higher amounts of nitrogen in the root medium brings about a marked increase in the 2,4-D action. Others results indicate that 2,4-D caused hydrolysed proteins to move from the leaves into the stem and root where they were resynthesized. The 2,4-D affects the metabolism of aminoacids causing an increase in their rate of oxidation and catabolism.

5) When whole plants were treated the phosphorus distribution was altered. It is possible that 2,4-D alters the pattern of phosphorus by action on the phosphorylating enzyme system.

6) One of the effects of 2,4-D is probably a change in the type of respiration which may be accompanied by either an increase or an inhibition of total respiration. Working in vitro system 2,4-D inhibits both oxidation and phosphorylation in mitochondria. The 2,4-D seems to induce a growth of mitochondria, which is manifested by an increase in mitochondrial nitrogen, increase in oxidative and phosphorylative properties and by an increase in phospholipids and nucleotides.

BIBLIOGRAFIA

1. AKERS, T. J., y FANG, S. C. *Effects of 2, 4-D on the metabolism of aspartic acid and glutamic acid in bean plant*. Pl. Phys. 31: 34-37. 1956.
2. BLACKMAN, G. E. *Interrelationships between the uptake of 2,4-D, growth, and ion absorption. The Chemistry and Mode of Action of Plant Growth Subs-*

- tances. Ed. por Wain R. L. y Wightman, F. (*Proceedings of a Symposium held at Wye College University of London*) 253-259. 1956.
3. COOKE, A. R. Influence of 2,4-D on the uptake of minerals from the soil. *Weeds* 5: 25-28. 1957.
 4. FANG, S. C. y BUTTS, J. S. *Studies in plant metabolism IV. Comparative effects of 2,4-D acid and other plant growth regulators on phosphorus metabolism in bean plants.* *Pl. Phys.* 29: 365-368. 1954.
 5. FANG, S. C. TEENY, F. y BUTTS, J. S. Influence of 2,4-D acid on pathway of glucose utilization in bean stem tissues. *Pl. Phys.* 35: 405-408. 1960.
 6. FELBER, I. E. The formation of protuberances on bean leaves in response to 2,4-D. *Am. Jour. of Bot.* 35: 555-557. 1948.
 7. FREELAND, R. O. Effects of 2,4-D and other growth substances on photosynthesis and respiration in *Anacharis*. *Bot. Gaz.* 111: 319-324. 1950.
 8. FREIBERG, S. R. y CLARK, H. E. Changes in nitrogen fractions and proteolytic enzymes of soybean plants treated with 2,4-D. *Pl. Phys.* 30: 39-46. 1955.
 9. GARREN, R., y REMMART. The effect of 2,4-D on the translocation of food materials in the bean plant. *Bot. Gaz.* 115: 105-121. 1953.
 10. HSUEH, Y. L., y LOU, C. H. Effect of 2,4-D on seed germination and respiration. *Science* 105: 283. 1947.
 11. HUMPHREYS, T. E. y DUGGER, W. M. The effect of 2,4-D on pathways of glucose catabolism in higher plants. *Pl. Phys.* 32: 136-140. 1957.
 12. — Effects of 2,4-D on the uptake and metabolism of endogenous substrates by corn roots. *Pl. Phys.* 34: 112-116. 1959.
 13. HUMPHREYS, T. E. y DUGGER, W. M. The effect of 2,4-D acid on the respiration of etiolated pea seedlings. *Pl. Phys.* 32: 530-536. 1957.
 14. KEY, J. L., HANSON, J. B. y BILS, R. F. Effect of 2,4-D acid application on activity and composition of mitochondria from soybeans. *Pl. Phys.* 35: 177-181. 1960.
 15. MITCHELL, J. W., BROWN, J. W. Movement of 2,4-D acid stimulus and its relation to the translocation of organic food materials in plant. *Bot. Gaz.* 197: 393-407. 1946.
 16. NANCE, J. F. Inhibition of salt accumulation in excised wheat roots by 2,4-D. *Science* 109: 174-176. 1949.
 17. ORMOND, D. P., y WILLIAMS, W. A. Phosphorus metabolism of *Trifolium hirtum* all. as affected by 2,4-D acid and gibberellic acid. *Pl. Phys.* 35: 81-87. 1960.
 18. PAYNE, M. C., FULTS, J. L. y HAY, R. V. The effect of 2,4-D treatment on free aminoacids in potato tubers. *Amer. Pot. Jour.* 29: 142-150. 1952.
 19. REBSTOCK, T. L., HAMNER, C. L. y SELL, H. M. The influence of 2,4-D on the phosphorus metabolism of crawberry bean plants. *Pl. Phys.* 29: 490-491. 1954.
 20. SWITZER, C. M. Effect of herbicides and related chemicals on oxidation and phosphorylation by isolated soybeans mitochondria. *Pl. Phys.* 32: 42-44. 1957.
 21. TAYLOR, D. L. Influence of oxygen tension on respiration, fermentation and growth in wheat and rice. *Am. Jour. of Bot.* 29: 721-738. 1942.
 22. WATSON, D. P. An anatomical study of the modification of bean leaves as result of treatment with 2,4-D. *Am. Jour. of Bot.* 35: 543-555. 1948.
 23. WEEDING, R. T. ERICKSON, L. C. y BRANÑAMAN, B. L. Effect of 2,4-D on photosynthesis and respiration. *Pl. Phys.* 29: 64-69. 1954.
 24. WEST, S. H., HANSON, J. B. y KEY, J. L. Effect of 2,4-D on the nucleus acid and protein content of seedling tissue. *Weeds* 8 (3): 333-340. 1960.
 25. WILDON, C. E. HUMMER, C. L. y BASS, S. T. The effect of 2,4-D on the accumulation of mineral elements in tobacco plants. *Pl. Phys.* 32: 243-244. 1957.
 26. WOLF, D. E., VERMILLION, G., WALLACE, A. y AHLGREN, G. H. Effect of 2,4-D on carbohydrate and nutrient element content and on rapidity of kill soybean plants growing at different nitrogen levels. *Bot. Gaz.* 112: 188-197. 1950.