

MINISTERIO DE EDUCACION DE LA NACIÓN
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

NOTAS DEL MUSEO

TOMO XX

Botánica, N° 95

FACTORES DE CRECIMIENTO EN MERISTEMAS INTERCALARES
DE « TROPAEOLUM MAJUS »

POR

E. SIVORI, M. ESPONDA y G. RUMI



LA PLATA

REPÚBLICA ARGENTINA

—
1963

FACTORES DE CRECIMIENTO EN MERISTEMAS INTERCALARES DE « *TROPAEOLUM MAJUS* »

POR E. SIVORI¹, M. ESPONDA² Y C. RUMI³

Con objeto de realizar ciertos estudios especiales relacionados con el mecanismo de acción de las auxinas se ha desarrollado un método biológico para determinar su actividad, con ciertas posibilidades distintas a los métodos clásicos, como el de la avena o arveja.

En principio consiste como en las pruebas mencionadas, en el crecimiento de una parte de una planta. Se emplea *Tropaeolum majus*, utilizando segmentos de peciolo adyacentes a la lámina correspondientes a la región del meristema intercalar. Ello permite obtener segmentos provenientes de plantas que han crecido bajo distintas condiciones de luz, temperatura, etc., o deficientes en los distintos elementos nutritivos minerales.

Son numerosos los factores que influyen sobre los resultados, a veces ejerciendo su acción durante la prueba o bien desde los períodos previos, los cuales han sido determinados por medio de numerosos ensayos. La interacción es tan grande que es difícil hablar de uno de ellos sin conocer la influencia de los restantes. Por esta causa transcribiremos en primer

¹ Profesor de Fisiología Vegetal.

² Ing. Agr. M. Esponda, Técnica de C.E.F.A.R.

³ Ing. Agr. C. Rumi, Técnica de C.E.F.A.R.

lugar las condiciones generales del método, que llamaremos "standard" en tal forma que cuando hablamos, por ejemplo, de la influencia de la longitud inicial del segmento utilizado, las condiciones restantes son las ya conocidas que se transcriben a continuación:

"1) Se extraen pecíolos de "taco de reina", no mayores de 7 cm de longitud ni menores de 1,5 cm. 2) Se cortan con una "guillotina" especial, segmentos adyacentes a la lámina de 5 mm de longitud. 3) Se colocan 30 segmentos en cada caja de Petri de 10 cm de diámetro junto con 10 ml de solución cuya actividad auxínica se desea determinar. 4) La solución tiene una composición básica de 0,25 % de sacarosa y poder "buffer" a base de ácido maleico e KOH, con un pH de 4,6. 5) Las cajas de Petri se mantienen a 27° C y oscuridad en estufa. 6) A las 48 horas se miden con un binocular micrométrico. 7) El crecimiento obtenido se compara con aquel de una solución patrón que posee sólo el "buffer" y la sacarosa.

"Soluciones con concentraciones crecientes de AIA provocan un crecimiento que puede expresarse en curvas que recuerdan a las obtenidas con segmentos de coleoptiles de avena o internodios de arveja". (Sívori-Rumi, 1960).

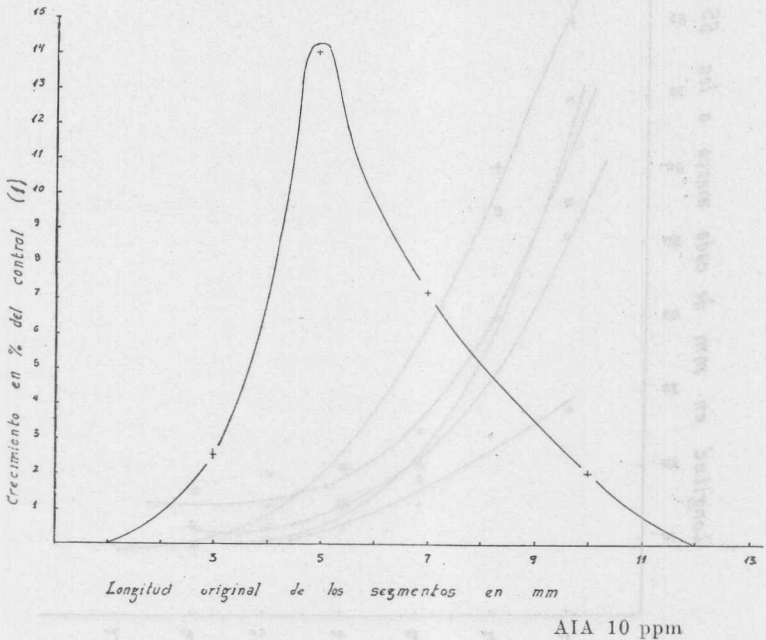
Longitud de los segmentos de pecíolos. — Se cortaron segmentos de 3, 5, 7 y 10 mm de longitud a partir de la lámina, los que se colocaron en las condiciones "standard" ya descritas, con sus respectivos controles sin AIA. Transcurridas las 48 horas se realizaron las lecturas cuyos resultados se detallan en el gráfico I.

Como puede observarse dentro de las longitudes ensayadas, a la de 5 mm o aproximadamente alrededor de este valor, corresponde el máximo de reacción. Se desconoce en detalle el mecanismo de crecimiento de los pecíolos de esta especie el que indudablemente debe estar compuesto por los dos pro-

cesos principales; la división celular y el agrandamiento de las células producidas. Es evidente que la reacción mayor debe incluir un sector suficientemente largo para que abarque la zona de división además de las células producidas antes del corte pero que aún no se han agrandado. Si el seg-

GRAFICO I

Crecimiento auxínico de los segmentos de pecíolos de distinta longitud expresado en % de la longitud del control



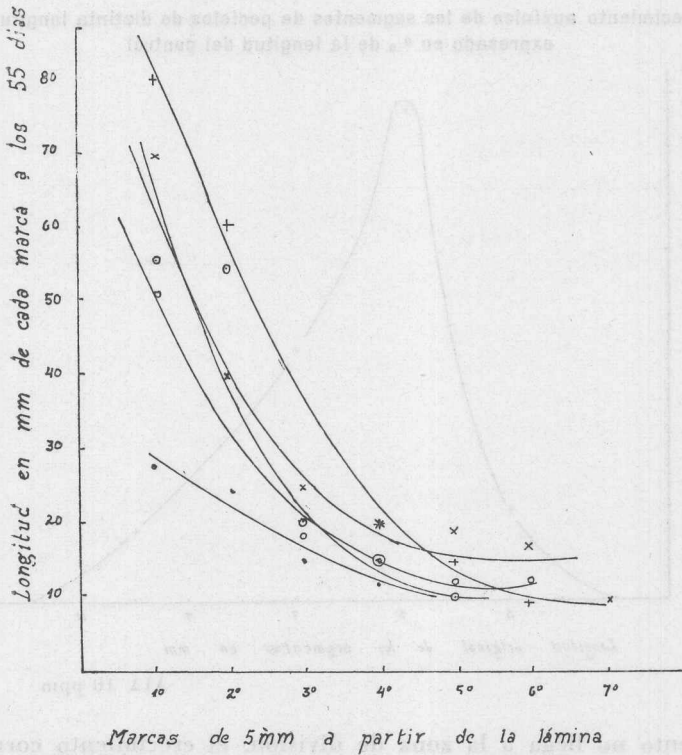
mento no llega a la zona de división, el crecimiento corresponderá sólo a las células anteriormente producidas; si corresponde sólo a las células en división no se producirá el agrandamiento de las células que todavía no habían sufrido este proceso. Los resultados indican que en el sector de 5 mm

(1) Control corresponde a segmentos de la misma longitud sin AIA.

adyacente a la lámina se encuentra la mayor parte de ambos procesos. Es indudable que la longitud del segmento es un factor del método que es necesario tener muy en cuenta.

GRAFICO II

Crecimiento de sectores de pecíolo en la planta
a diversas distancias de la lámina



Crecimiento de sectores de pecíolos a diversas distancias de la lámina. — A plantas mantenidas en el invernáculo, se les marcaron los pecíolos, a partir de la lámina, en sectores de 5 mm cada uno. Se observaron continuamente hasta que las hojas habían disminuido su crecimiento o habían dejado de

crecer en forma aparente, lo cual ocurrió a los 55 días. Se midieron las longitudes finales de dichos sectores con los resultados que se observan en el gráfico II.

Como se observa, el primer sector es el que ha crecido más, llegando a un promedio aproximado de 57 mm o sea a 11 veces la longitud original. El crecimiento decrece marcadamente hasta el cuarto sector donde comienza a desaparecer o sea donde el tejido ya está estabilizado, lo cual ocurre entonces a partir de los 15 mm. Es de hacer notar que la primera marca casi sobre la lámina se mantuvo constantemente en esa posición como así también la gran variación que existe entre una planta y otra.

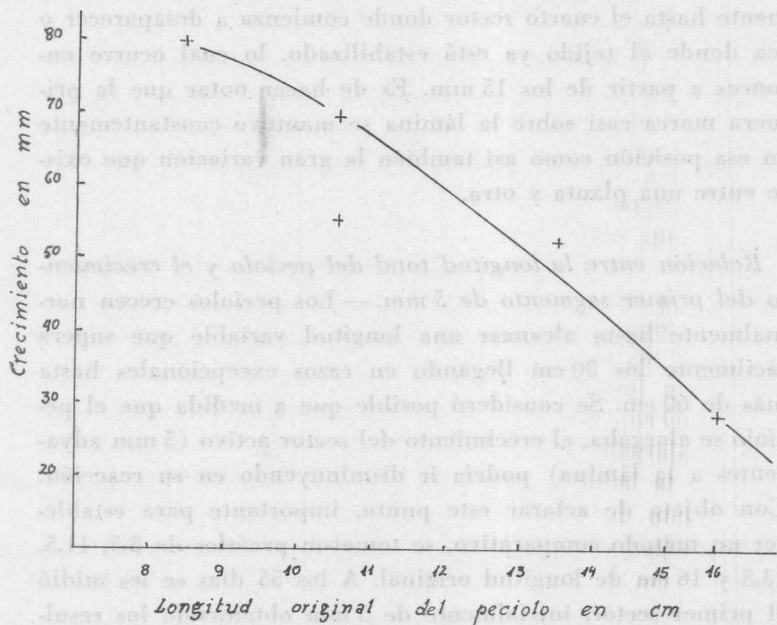
Relación entre la longitud total del pecíolo y el crecimiento del primer segmento de 5 mm. — Los pecíolos crecen normalmente hasta alcanzar una longitud variable que supera fácilmente los 30 cm llegando en casos excepcionales hasta más de 60 cm. Se consideró posible que a medida que el pecíolo se alargaba, el crecimiento del sector activo (5 mm adyacentes a la lámina) podría ir disminuyendo en su reacción. Con objeto de aclarar este punto, importante para establecer un método comparativo, se tomaron pecíolos de 8,5, 11,5, 13,5 y 16 cm de longitud original. A los 55 días se les midió el primer sector, inicialmente de 5 mm obteniendo los resultados que se exponen en el gráfico III.

Los resultados indican que a partir de los 8,5 cm, la reacción del sector activo va disminuyendo en forma pronunciada a medida que la longitud total del pecíolo se alarga. No sabemos lo que ocurre con pecíolos inferiores a los 8,5 cm, pero dentro de esta longitud la reacción es suficientemente grande como para utilizarlos en la prueba auxínica. Como es sumamente difícil obtener numerosos pecíolos de una misma longitud se toman aquellos comprendidos dentro de un rango, introduciendo así un factor de variación debido a las

distintas longitudes de los pecíolos. Por otra parte todo indica que hay otras fuentes superiores de error aún de causas desconocidas.

GRAFICO III

Relación entre la longitud total del pecíolo y el crecimiento de un sector de 5 mm adyacente a la lámina (1)



Efectos de las temperaturas durante el crecimiento de los segmentos. — Con objeto de determinar el efecto de las temperaturas durante el crecimiento de los segmentos se realizó un ensayo que consistió en mantener distintos grupos de segmentos a 22°, 27° y 32° C midiendo el crecimiento en forma "standard". Los resultados se exponen en el gráfico IV.

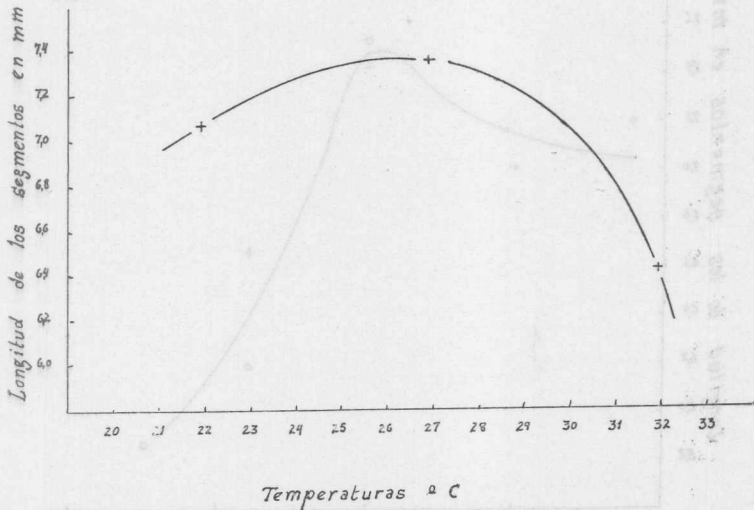
La temperatura de 27° C parece la más adecuada, decayendo los valores a medida que se la supera.

(1) Mediciones realizadas a los 55 días.

Efectos de las temperaturas durante las 24 horas previas al ensayo. — Se estimó de interés determinar el efecto que producen las temperaturas anteriores al ensayo, actuando sobre la hoja completa (lámina y pecíolo).

Se realizaron dos ensayos, probando, en el primero las temperaturas de 3°, 10°, 20° y 27° C y en el segundo las tempe-

GRAFICO IV
Crecimiento auxínico de segmentos de pecíolo a tres temperaturas



AIA 5 ppm

raturas de 20°, 27° y 35° C. En todos los casos se cortaron las hojas del tamaño adecuado colocándolas a oscuridad en vasos de precipitación con agua. Posteriormente se cortaron los segmentos en la forma descripta y se los colocó en las soluciones de AIA donde crecieron, obteniendo los resultados expuestos en el gráfico V.

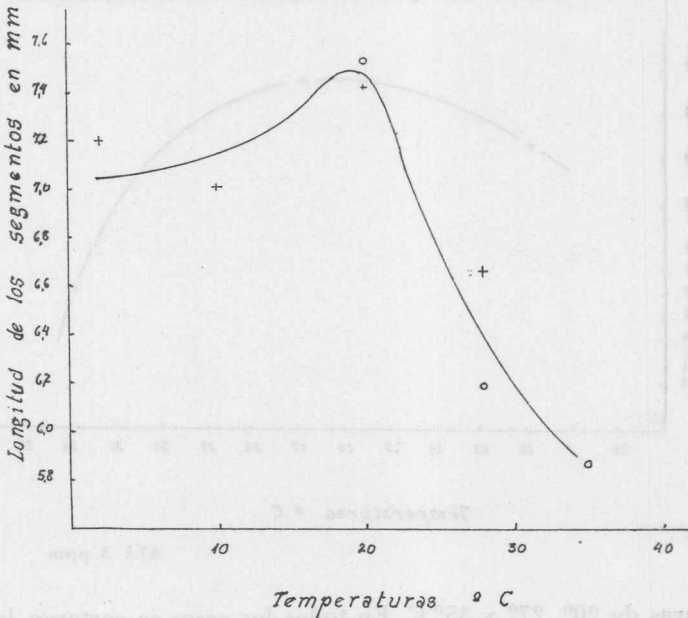
Como puede observarse los efectos de las temperaturas son muy importantes. No se han producido diferencias de impor-

tancia hasta la temperatura de 20° C; superada la cual se manifiesta un fuerte decaimiento del crecimiento.

Efectos de la luz u oscuridad previas al ensayo.— En forma general se consideró que la luz (o bien su ausencia), actuando

GRAFICO V

Tratamiento de temperaturas de las hojas durante 24 horas, previo al crecimiento auxínico de los segmentos de pecíolo



AIA 5 ppm

sobre las plantas, podría ejercer su acción sobre un metabolismo que influyera directa o indirectamente sobre el crecimiento de los segmentos de acuerdo a las condiciones de trabajo ya descriptas.

Con objeto de tener una idea general sobre esta posible influencia se tomaron dos grupos de plantas, uno de los cuales

se colocó en recinto oscuro mientras que el otro se mantuvo bajo condiciones de luz natural, durante cuatro días previos al ensayo.

Transcurrido este tiempo, se realizó la prueba utilizando el primero y segundo segmento de cada pecíolo, que se colocaron individualmente en tubos de 1,5 cm de diámetro con 0,5 ml de la solución con AIA a 5 ppm. Las condiciones de

CUADRO I

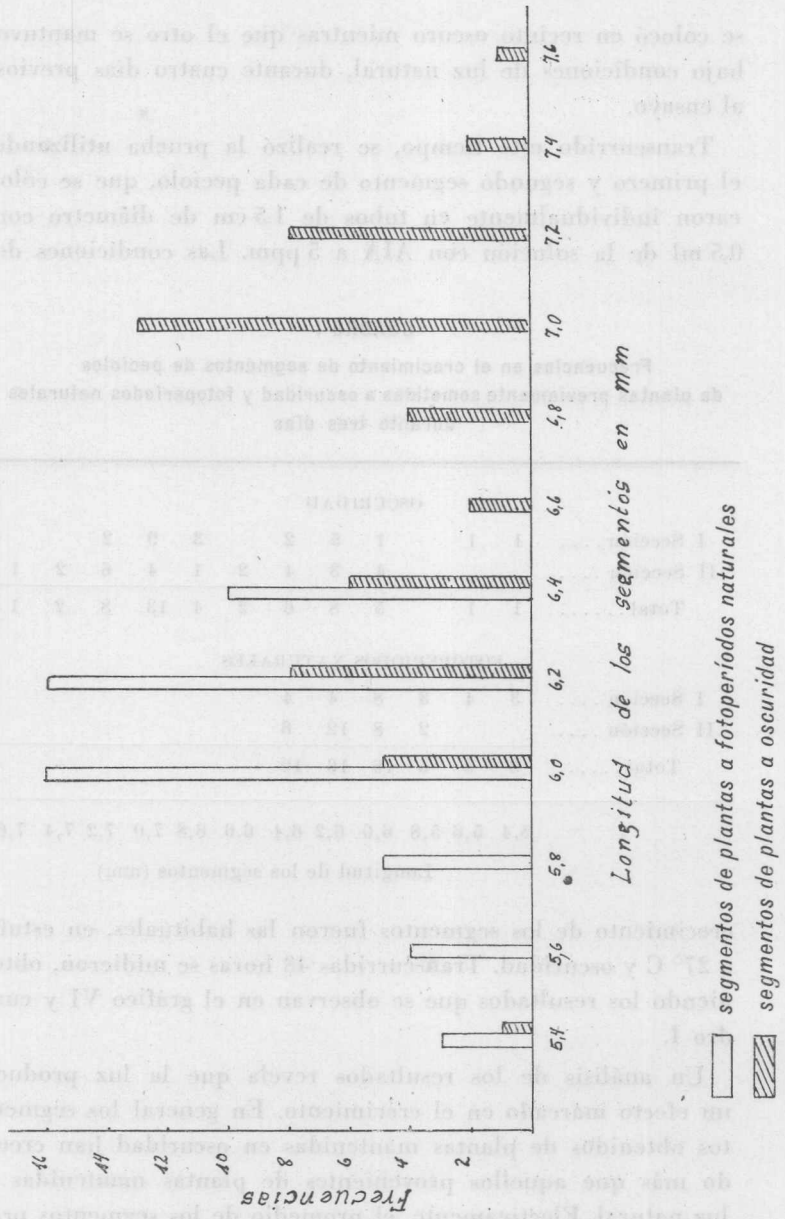
Frecuencias en el crecimiento de segmentos de pecíolos de plantas previamente sometidas a oscuridad y fotoperíodos naturales durante tres días

		OSCURIDAD											
I Sección	1	1	1	5	2	3	9	2					
II Sección			4	3	4	2	1	4	6	2	1		
Total	1	1	5	8	6	2	4	13	8	2	1		
		FOTOPERIODOS NATURALES											
I Sección	3	4	3	8	4	4							
II Sección			2	8	12	6							
Total	3	3	5	16	16	10							
		5,4	5,6	5,8	6,0	6,2	6,4	6,6	6,8	7,0	7,2	7,4	7,6
		Longitud de los segmentos (mm)											

crecimiento de los segmentos fueron las habituales, en estufa a 27° C y oscuridad. Transcurridas 48 horas se midieron, obteniendo los resultados que se observan en el gráfico VI y cuadro I.

Un análisis de los resultados revela que la luz produce un efecto marcado en el crecimiento. En general los segmentos obtenidos de plantas mantenidas en oscuridad han crecido más que aquellos provenientes de plantas mantenidas a luz natural. Electivamente, el promedio de los segmentos pro-

GRAFICO VI
Crecimiento auxínico de segmentos de pecíolo de plantas previamente sometidas a oscuridad y fotoperíodos naturales durante tres días



venientes de la luz natural han dado un valor de 6 mm mientras que en aquellos provenientes de la oscuridad dicho promedio alcanzó a 6,7 mm, diferencia que representa un 11 %. A parte de esta diferencia y tomando en cuenta todos los segmentos de las plantas mantenidas en luz (primeros y segundos) y todos los provenientes del tratamiento a oscuridad, puede observarse (gráfico VI) que los primeros determinan una curva bimodal perfectamente delimitadas.

El análisis estadístico de los dos promedios de las curvas bimodales indica una diferencia altamente significativa. En efecto, los valores correspondientes a la curva de media inferior dan un promedio de 6,16 mm y el correspondiente a la curva de media mayor, de 7,06 mm. La diferencia entre ambos, 0,90 mm es muy superior a tres veces su error "standard" (0,21). Las dos medias no corresponden a los primeros y segundos segmentos de los pecíolos por que ya se manifiestan (cuadro I) tanto para los primeros segmentos como para los segundos.

La presencia de curvas bimodales se ha repetido numerosas veces sólo en segmentos de plantas mantenidas en oscuridad y en algunas circunstancias han aparecido curvas trimodales. Es de hacer notar que la curva de oscuridad de media inferior tiende a acercarse a la media correspondiente a los segmentos de las plantas a luz.

Sobre la base de estos resultados y teniendo en cuenta que las plantas a luz poseen un mayor contenido de hidratos de carbono el cual no podría ser tan alto como para provocar una inhibición, todo induce a pensar que puede tratarse de la producción de sustancias reguladoras, inhibidoras en el primer caso (luz) o sinérgicas con el AIA en el segundo caso (oscuridad).

Este último punto de vista parece más probable. En esta circunstancia es evidente que las láminas foliares intervienen

drían en forma importante en la producción de los reguladores. El mayor crecimiento de los segmentos de pecíolos extraídos de plantas de oscuridad sólo se manifiesta en algunos casos ya que no se ha repetido en todos los ensayos realizados. En efecto, otro de los ensayos se llevó a cabo colocando las plantas divididas en dos grupos en una cámara de temperatura controlada, parte de la cual recibía luz solar. En esta forma los dos grupos de plantas se mantuvieron a igualdad de temperatura de la atmósfera que las circundaba, si bien es de esperar que los tejidos del grupo que recibía la luz estarían a mayor temperatura que el grupo que estaba en oscuridad. En este estado las plantas se mantuvieron tres días, luego de lo cual se realizó el ensayo en las condiciones "standard". Los resultados, 6,9 mm en luz y 7,2 mm en oscuridad, no indican una diferencia importante a favor de los pecíolos de las plantas provenientes de la oscuridad, pero pudo observarse en esta última, la curva bimodal descripta. Puede notarse también que la curva inferior de las curvas bimodales no coincide con la curva de luz.

Influencia de la lámina foliar. — A fin de determinar la influencia de la lámina en los períodos previos al ensayo se realizaron algunas pruebas con variantes entre sí.

En una de ellas se cortaron hojas con sus pecíolos que se mantuvieron durante 7 horas en vasos de precipitación con agua, a los siguientes tratamientos:

- a) Pecíolos sin lámina a oscuridad;
- b) Pecíolos con lámina a oscuridad;
- c) Pecíolos con lámina a luz.

A continuación se cortaron los segmentos y se realizó el ensayo en las condiciones normales descriptas. Los segmentos provenientes de pecíolos sin lámina crecieron 8,2 %; los obtenidos de pecíolos con lámina a luz 16,2 % y los procedentes

de pecíolos con lámina a oscuridad 24,7 % con respecto a sus correspondientes testigos de igual tratamiento pero sin AIA.

Con ciertas variaciones se realizaron pruebas similares llegando a la conclusión de que la presencia de la lámina en los períodos previos al ensayo es de fundamental importancia para que los segmentos reaccionen al AIA. Como las soluciones llevan azúcar debemos deducir que de la lámina se trasladan uno o varios compuestos sinérgicos con el AIA.

La acción de la luz sobre la lámina no es constante, ejerciendo sólo en algunos casos una actividad inhibitoria. La presencia de curvas bimodales en lo que respecta al crecimiento de los segmentos provenientes de plantas en oscuridad provocado por el AIA parece confirmar la interpretación de sustancias sinérgicas originadas en la lámina.

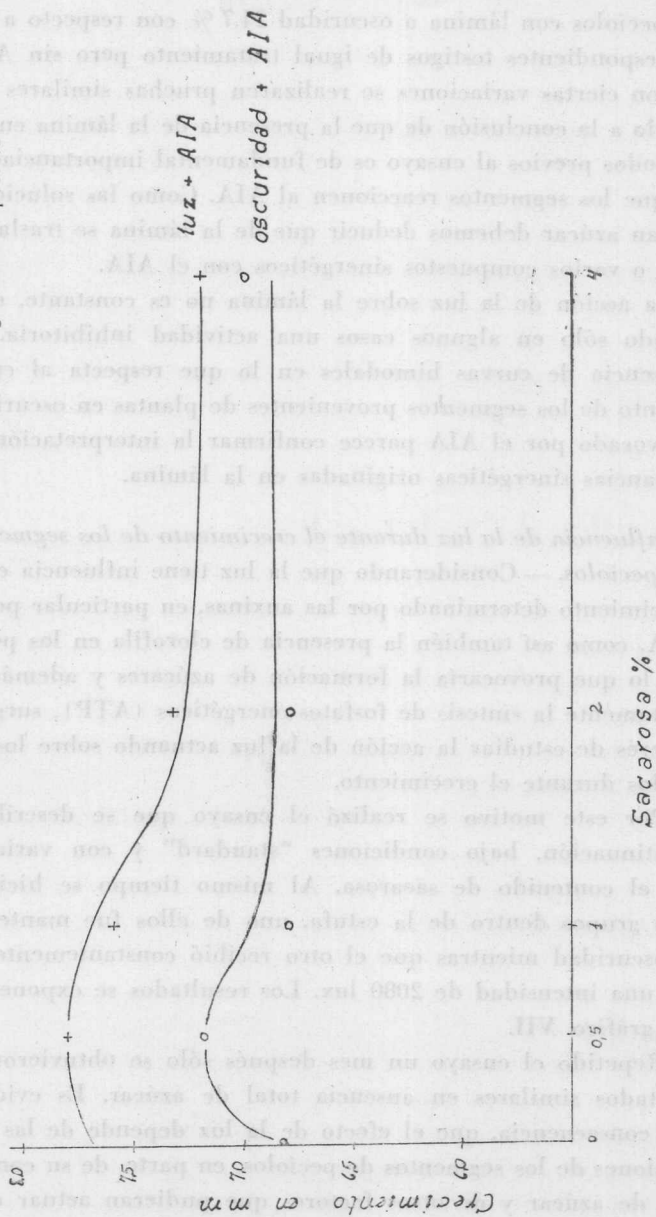
Influencia de la luz durante el crecimiento de los segmentos de pecíolos.— Considerando que la luz tiene influencia en el crecimiento determinado por las auxinas, en particular por el AIA, como así también la presencia de clorofila en los pecíolos lo que provocaría la formación de azúcares y además directamente la síntesis de fosfatos energéticos (ATP), surge el interés de estudiar la acción de la luz actuando sobre los pecíolos durante el crecimiento.

Por este motivo se realizó el ensayo que se describe a continuación, bajo condiciones "standard" y con variantes en el contenido de sacarosa. Al mismo tiempo se hicieron dos grupos dentro de la estufa, uno de ellos fue mantenido a oscuridad mientras que el otro recibió constantemente luz de una intensidad de 2080 lux. Los resultados se exponen en el gráfico VII.

Repetido el ensayo un mes después sólo se obtuvieron resultados similares en ausencia total de azúcar. Es evidente en consecuencia, que el efecto de la luz depende de las condiciones de los segmentos de pecíolos, en parte, de su contenido de azúcar y de otros factores que pudieran actuar como

GRAFICO VII

Influencia de la luz y oscuridad durante el crecimiento auxínico de los segmentos de peciolo



AIA 5 ppm

estimulantes o inhibidores. Cuando se obtiene un buen crecimiento como en el caso del ensayo descrito el efecto de la luz es bien marcado y no se reemplaza por el contenido de sacarosa de la solución. Los segmentos sometidos a luz sufren una inhibición cuando el contenido de azúcar aumenta por arriba de cierto límite que en el ensayo fue de 0,5 %. Esa concentración óptima en la segunda prueba fue de 0,25 %.

RESUMEN.— Con objeto de realizar estudios sobre auxinas, se han determinado los factores de crecimiento auxínico en meristemas intercalares de *Tropaeolum majus*.

Entre estos factores se estudia la longitud de los segmentos de pecíolos; sus distancias hasta la lámina; influencia de la longitud total del pecíolo; influencia de las temperaturas durante y previas al ensayo; influencia de la luz u oscuridad previas y durante el ensayo.

La longitud óptima es de 5 mm. La región más adecuada es aquella adyacente a la lámina. La temperatura óptima durante el ensayo es de 27°C, y aquellas previas al ensayo deben ser inferiores a 20°C.

El efecto de la luz, previa al ensayo, sobre la planta completa o las hojas es variable. En algunos casos la luz produce un efecto inhibitor. El crecimiento auxínico de los segmentos de pecíolos de plantas provenientes de oscuridad, expuesto en un gráfico, determina una curva bimodal con diferencias de alta significancia. El efecto de la luz u oscuridad se interpreta como la producción de sustancias inhibitoras en el primer caso o sinérgicas en el segundo.

La presencia de la lámina durante un período previo al ensayo es de importancia para el crecimiento auxínico de los segmentos. Se interpreta, coincidiendo con los resultados anteriores, como las síntesis de uno o más compuestos que interaccionan con el AIA. Entre ellos no interviene el azúcar.

La luz, actuando durante el ensayo directamente sobre los pecíolos, que contienen clorofila, determina un mayor crecimiento auxínico comparado con los de oscuridad. Esto se debe en parte a la síntesis de azúcar o posiblemente a la formación fotosintética de ATP, además de otros factores no determinados.

SUMMARY.— Factors influencing growth of intercalary meristems in *Tropaeolum majus* have been determined in order to use petiole sections of this species in auxin studies. The influence of total length of petioles, length of the petiole segment used, distance of these segments from the

blade, temperature previous and during the experiment as well as light conditions during and before the experiments were determined. Optimum length was found to be 5 mm; best portion of the petiole was the segment adjacent to the blade. Optimum temperature during the experiment: 27° C; before the same, less than 20° C. Variations in light conditions during plant growth did not give consistent results. In certain cases light inhibited growth. Growth of segments from plants kept in darkness resulted in a bimodal curve whose peaks showed highly significant differences. The effect of light and darkness are interpreted as provoking formation of inhibitors and of sinergetic substances, respectively. The presence of the blade during the period previous to the experiment, turned out to be important for segment growth. It is suggested that the same influences the synthesis of one or more substances interacting with IAA but that sucrose is not amongst them. Light enhances growth of segments containing chlorophyll, which might be due to the effect of sugar synthesis or photosynthetic ATP formation, but other undetermined factors may be of importance.

BIBLIOGRAFIA

- HILLMAN, W. *Control of pea internode section growth by photoperiodically active radiations, growth substances, and sucrose: Plant Phys.* 32 (Suppl.): 48. 1957.
- PURVES, W. K. and W. S. HILLMAN. *Response of pea stem sections to indole-acetic and sucrose as affected by length and distance from apex: Phys, Plant.* 11 : 29-35. 1958.
- SÍVORI, E. y C. RUMI. *Variación en el crecimiento de segmentos de pecíolos de "Tropaeolum majus", provocado por la interacción de ácido giberélico y ácido indolacético: Fiton* 15 (2); 119-127, XII. 1960
- VARDAR, Y. *Sleeping movements of "Tropaeolum leaves": Revue de la Faculté des Sciences de L'Université d'Istanbul. Serie B. Tome XXI, Fasc. 3.* 1956.
- WAIN, R. L. and F. WIGHTMAN. *The chemistry and mode of action of plant growth substances: Proceeding of a symposium held at Wye College (University of London). July 1955. Butter Worths Scientific Publications, 1956.*