Concentraciones opuestas de AIA-ABA aceleran el desarrollo floral de *Solidago* x *luteus*

Opposite concentrations of IAA-ABA increase flower development in *Solidago* × *luteus*

Víctor Julio Flórez[1] y Maria de Fátima D. Aleixo Pereira[2]

RESUMEN

El desarrollo floral es una secuencia de numerosos pasos, cada uno con requerimientos específicos afectados directamente por las condiciones químicas y ambientales. La luz desempeña un papel central en la iniciación del desarrollo floral. *Solidago* × *luteus* (M. L. Greene) Brouillet y Semple (= × *Solidaster hybridus*, × *S. luteus*) responde a los días largos (DL) para la inducción floral y a los días cortos (DC) para el desarrollo de la flor. En este trabajo se recolectaron muestras de hojas y botones florales de plantas de *S.* × *luteus* crecidas en diferentes condiciones fotoperiódicas: DC (8 h) y DL (18 h). A través de diferentes bioensayos, se detectó la actividad promotora e inhibidora de sustancias presentes en la fracción ácida de los extractos vegetales. Posteriormente, las concentraciones de AIA y de ABA presentes en los extractos se determinaron a través de cromatografía líquida de alta eficiencia. Los resultados mostraron la ausencia de actividad giberelínica en los tratamientos estudiados; entretanto, se constató una mayor concentración de AIA en hojas y botones florales en plantas en condiciones de DL, en comparación con plantas de DC, lo que podría estar relacionado con la mayor velocidad de antesis floral en plantas en DC. Las mayores concentraciones de ABA, con relación al inicio de los tratamientos fotoperiódicos, ocurrieron en hojas y botones florales de plantas en DC; así, en el balance AIA:ABA, éstos se encontrarían en concentraciones opuestas, principalmente en el botón floral en DC, en el que se observó la mayor cantidad de ABA y la ausencia de AIA.

Palabras clave: Solidaster, giberelinas, ácido indol-3-acético, ácido abscísico, Clae.

ABSTRACT

The floral development consists of many sequential steps, each one with specific requirements affected directly by the chemical and environmental conditions. The light plays a central role in the initiation of floral development. In *Solidago* × *luteus* (M. L. Greene) Brouillet & Semple (= × *Solidaster hybridus*, × *S. luteus*), the response are given to the long days (LD) for floral induction and those to the short days (SD) for flower development. Samples of leaves and floral buds of *S.* × *luteus* plants grown under different photoperiodic conditions (SD (8 h) and LD (18 h)) were collected. Performing different bioassays allowed detecting both promotory and inhibitory activity of substances present in the acid phase of the extracts. Further more, the concentrations of IAA and ABA presented in the extracts were determined through High Performance Liquid Chromatography. In any treatment, the activity of gibberellin-like substances was not detected. In LD (18 h) plants, it was observed a higher concentration of IAA in leaves and floral buds than that in SD (8 h) plants suggesting that it may be related to more rapid anthesis in plants kept in short days. In extracts from leaves and flower buds in SD plants, the higher levels of ABA were found in relation to the beginning of the photoperiodic treatments. Therefore, in the balance of IAA:ABA, they seem to exist in opposite concentrations, mainly in the flower buds under 8 h, where the higher amount of ABA and absence of IAA were observed.

Key words: Solidaster, gibberellins, indole-3-acetic acid, abscisic acid, HPLC.

Introducción

Solidago × *luteus* (M. L. Greene) Brouillet y Semple (= × *Solidaster hybridus*, × *S. luteus*) es un híbrido interespecífico entre *Solidago ptarmicoides* (= *Aster ptarmicoides*) y *Solidago canadensis* (Brouillet y Semple, 1981) que tiene su floración influenciada por citoquininas (Flórez-Roncancio y Pereira, 1995). En trabajos anteriores se constató que *S.* × *luteus* es una planta de respuesta fotoperiódica cuantitativa a días largos (DL) para la inducción floral (Flórez-Roncancio *et al.*, 1996) y a días cortos (DC) para el desarrollo de la flor (Flórez-Roncancio y Pereira, 1994).

De la misma forma que la planta usa señales ambientales y sustancias químicas para la inducción floral, también mantiene un complejo sistema para garantizar el desarrollo de

Fecha de recepción: octubre 5 de 2007. Aceptado para publicación: julio 10 de 2008

[1] Profesor asociado, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. vjflorezr@unal.edu.co
[2] Profesora titular, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas (Brasil).

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 237 06/10/2008 19:40:28

la estructura floral hasta la antesis y la posterior formación de frutos y semillas.

El contenido de auxina aumenta durante el crecimiento activo de las estructuras reproductivas, probablemente como resultado de la síntesis en los órganos sexuales, en especial en el ovario. Las anteras serían la fuente principal de auxina en los primeros estadios del desarrollo del botón floral, mientras que en estadios posteriores el ovario sería el principal productor de esta fitohormona (Lang, 1961, citado por Kinet *et al*., 1985; Aloni *et al*., 2006). La tasa máxima de crecimiento del tallo floral en *Papaver* está asociada con una alta concentración de auxina (Katunskij, 1936, citado por Kinet *et al*., 1985). La producción de auxina en *Fritillaria meleagris* aumenta antes de la antesis, diminuyendo en seguida y aumentando nuevamente en el cuajado del fruto (Kaldewey, 1957, citado por Kinet *et al*., 1985). Durante el desarrollo del botón floral se han sugerido dos posibles acciones de las auxinas: el AIA (ácido indol-3-acético) libre producido por los órganos florales promueve su propio crecimiento y diferenciación, pero restringe la actividad y el crecimiento de órganos adyacentes (Aloni *et al*., 2006).

El ABA (ácido abscísico) se ha detectado en botones florales de algunas plantas. En V*icia* está localizado principalmente en el gineceo, con altas concentraciones en la antesis (Dathe y Sembdner, 1980). Las concentraciones de ABA también aumentan en botones florales de café pocos días antes de la antesis (Browning, 1973, citado por Kinet *et al*., 1985). Las concentraciones de ABA son mayores en las hojas y botones de *Phaseolus* P47 cultivadas en condiciones de DL, que favorecen el aborto floral, que en las plantas cultivadas en condiciones de DC, en las que se estimula el desarrollo floral. Las concentraciones mayores de ABA libre y conjugado están en los botones abortados (Bentley *et al*., 1975). En rosas, la concentración del inhibidor es mayor en las hojas de los tallos no florales que en las de tallos florales, en particular después de la iniciación de los órganos florales (Zieslin y Halevy, 1976).

Es difícil establecer la acción exacta de las giberelinas (GA) durante el proceso de floración, a causa de las respuestas diferentes de las especies. Sin embargo, a través del análisis de varios mutantes de *Arabidopsis thaliana* con alteraciones en las enzimas responsables por la síntesis de GA o con insensibilidad a éstas, se ha demostrado su participación en el proceso de la iniciación floral (Wilson *et al*., 1992). Además, en especies que responden a las GA, como *Lolium temulentum*, una planta de DL, las GA exógenas aparentemente estimulan la producción de una señal en las hojas que posteriormente induce la iniciación floral (McDaniel y Hartnett, 1996).

En esta investigación se correlacionaron sustancias endógenas presentes en la fracción ácida de extractos de la parte aérea de la planta de *Solidago* × *luteus* con su desarrollo floral, en condiciones fotoperiódicas de DL de 18 h y de DC de 8 h.

Material y métodos

Material vegetal

Esquejes con raíz de *Solidago* × *luteus* crecieron en materas con capacidad de 2 L y una mezcla de partes equivalentes de suelo, arena y compuesto orgánico, en condiciones de invernadero. Las plantas se fertirrigaron quincenalmente con solución de Hoagland (Hoagland y Arnon, 1938) y se mantuvieron en fotoperiodo de 18 h hasta el estadio de formación del botón floral (botones florales con 1,5 ± 0,12 mm de diámetro y 736 ± 159,5 botones florales por gramo). En este estadio, un lote de plantas se mantuvo en este mismo fotoperiodo y otro lote se transfirió a la condición de DC (8 h).

Los DC (8 h) se obtuvieron cubriendo los bancos en donde estaban acondicionadas las materas con una cortina de tejido negro, mientras que las condiciones de DL (18 h) se alcanzaron completando el fotoperiodo natural con iluminación artificial suministrada por lámparas incandescentes (53 $W \cdot m^{-2}$).

Las muestras de hojas y botones florales se recolectaron de plantas al inicio de los tratamientos fotoperiódicos y 15 ± 2,3 d después, en condiciones de DL y DC.

Extracción de fitohormonas

Para la extracción y fraccionamiento de los extractos se colectaron 3 g de hojas o botones florales, para luego macerarlos en una solución acuosa de metanol al 80%, guardando la relación 1 g/10 mL. Después de 24 h se hizo un primer filtrado y el residuo se puso en una nueva solución para hacer un segundo filtrado 24 h más tarde; el extracto total fue el producto de los dos filtrados. Después de remover el metanol en evaporador rotativo bajo presión reducida a temperatura de 30-35 °C, se procedió al fraccionamiento del extracto acuoso para la obtención de las fracciones ácida y básica, de acuerdo con la técnica descrita por Felippe *et al.* (1985) modificada.

La fracción ácida obtenida por el método descrito fue corrida sobre placa de vidrio de 0,20 x 0,20 m cubierta con una capa de 0,5 mm de suspensión de gel de sílice y agua en la proporción de 1/2 (g de sílice/mL de agua destilada), con activación de 30 min a 105 °C antes del uso. Las placas cromatográficas se desarrollaron en una longitud de 15 cm con benceno : n-butanol : ácido acético (14 : 5 :

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 238 06/10/2008 19:40:28

1). Los patrones de AIA y ABA se desarrollaron en placa de gel de sílice (PF_{254} Merck) con benceno : n-butanol : ácido acético (14 : 5 : 1) y se revelaron bajo luz ultravioleta (UV) luego de pulverización de una solución de Salkowski ($FeCl_3$ 1,5 M : H_2O : H_2SO_4, en proporción 3 : 100 : 60) y con anisaldehído modificado (anisaldehído : etanol : ácido sulfúrico : ácido acético glacial, en proporción 0,5 : 9 : 0,5 : 0,1), seguida de calentamiento a 70 °C por 5-10 min aproximadamente (Merck, 1971).

La fracción ácida de extractos de hojas y botones florales de plantas mantenidas en DL también se corrió sobre papel de cromatografía Whatman 3 MM. La cromatografía en papel se desarrolló en forma ascendente en una longitud de 15 cm en cámara cromatográfica de vidrio, usando como fase móvil el sistema de solventes isopropanol : amoniaco : agua (10:1:1).

Los cromatogramas de los bioensayos se dividieron en partes iguales: 10 horizontalmente y 4 verticalmente, para un total de 40 fracciones, además de una fracción de control compuesta de gel de sílice, en la que se corrió solo el juego de solventes. En el caso de la cromatografía en papel, cada una de las repeticiones se recortó y distribuyó de forma homogénea en una caja de Petri de 50 mm de diámetro cubierta con una hoja de papel de filtro y se adicionaron 2 mL de agua destilada. Como control se utilizó papel recortado proveniente de un cromatograma recorrido solamente por el solvente.

Bioensayos

El bioensayo de elongación del hipocótilo de lechuga para la detección de sustancias giberelínicas fue realizado de acuerdo con Frankland y Wareing (1960). Se emplearon semillas de lechuga del cv. 'Grand Rapids', que germinaron durante 24 h en cajas de Petri a 25 °C bajo luz blanca continua. Después de este período, las plántulas se seleccionaron por la homogeneidad de la longitud de la radícula y se colocaron en grupos de 4 en las cubetas para hielo, donde estaban distribuidas cada una de las repeticiones de gel de sílice correspondientes a los rangos de Rf del cromatograma en estudio. Como patrón se utilizó una solución de ácido giberélico (GA_3) 10^{-3} M.

Las cubetas se pusieron en bandejas con papel de filtro humedecido y se recubrieron con película de polipropileno transparente. Este sistema se mantuvo en cámara de crecimiento a 25 °C con luz blanca continua (18,2 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$) por 72 h. Los hipocótilos de las plántulas se midieron y los resultados se expresaron como porcentaje del control.

Para la detección del posible inhibidor, el extracto obtenido se probó a través del bioensayo de inhibición de germinación de semillas de lechuga (Webb y Wareing, 1972). Para ello, semillas del cv 'Grand Rapids' se pusieron a germinar en cajas de Petri con el papel correspondiente a una repetición de cada franja de Rf, papel de filtro y agua destilada. Se hicieron 4 repeticiones con 20 semillas por caja. Las placas se colocaron en bandejas, como se describió arriba, y después de 24 y 48 h se contó el número de semillas germinadas.

Cromatografía líquida de alta eficiencia

Para el análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia (Clae), se utilizaron las fitohormonas patrón Sigma: ácido indol-3-acético (AIA) y mezcla de isómeros de ácido abscísico (ABA), a una concentración de 100 µM, mezcladas en proporción 2:1 y eluidas en gradiente de 5% a 100% de solvente B en 55 min. Como solvente A se empleó agua milliQ acidificada con 0,5% de ácido acético y como solvente B, metanol; flujo, 0,8 $mL \cdot min^{-1}$; atenuación de 32; área mínima, 10.000; λ_1, 254 nm y λ_2, 280 nm (Durley *et al.*, 1978).

Se empleó un cromatógrafo para Clae (Pharmacia LKB) constituido por controlador de sistema, dos bombas de pistón doble con mezclador de alta presión estático, detector de UV-vis e integrador, y una columna analítica Sephasil C18 (5 µm, 4 x 250 mm, Pharmacia LKB), con flujo de 0,8 $mL \cdot min^{-1}$ y como fase móvil los solventes A y B.

Después de la evaporación del acetato de etilo del último paso de la extracción de la fracción ácida, ésta se resuspendió en 500 µL de agua milliQ esterilizada más 0,5% de ácido acético. Después de la filtración del extracto por filtro Millipore 0,22 µm, se inyectó la totalidad de la muestra en el cromatógrafo y se recogieron las fracciones correspondientes a los tiempos de retención de los patrones de AIA y ABA, previamente corridos.

Las fracciones recolectadas correspondientes a AIA y ABA se concentraron por separado en un rotavapor a una temperatura inferior a 40 °C; el residuo se resuspendió en 2 mL de agua milliQ esterilizada más 0,02% de NaN_3.

Para efectos de cuantificación, en las condiciones previamente descritas se eluyeron los patrones con la siguiente secuencia: 10 µL de la mezcla de patrones de AIA y ABA (2:1); 100 µL de la fracción ácida correspondiente a cada uno de los tratamientos, con 50 µL de la fracción correspondiente a AIA y 50 µL de la fracción correspondiente a ABA, y 100 µL de la misma fracción ácida más 5 µL de la mezcla de patrones AIA y ABA.

Las medidas obtenidas en la integración por el cálculo de las áreas de los picos se relacionaron con la concentración

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 239 06/10/2008 19:40:29

de las sustancias reguladoras de crecimiento en la muestra, comparando las áreas obtenidas en el cromatograma de la muestra con las obtenidas en el cromatograma de los patrones, de acuerdo con los respectivos tiempos de retención.

Análisis estadístico

Se usó el diseño experimental completamente al azar. Posterior al análisis de varianza, las medidas de los tratamientos se compararon por medio de la prueba de Tukey (P<0,05). Los datos de germinación se transformaron en valor angular = arco seno$\sqrt{p}$, donde p corresponde a la proporción de semillas germinadas. Estos valores se emplearon en el análisis estadístico posterior .

Resultados y discusión

Presencia de giberelinas

No se detectó actividad giberelínica en la fracción ácida de los extractos de hojas y botones florales de las plantas de *Solidago* en los tratamientos estudiados (figuras 1 y 2); por el contrario, en el extracto de hojas de plantas en DL (figura 1b) se verificó una inhibición significativa de la elongación del hipocótilo de lechuga, en el rango del Rf 0,9-1,0. De igual manera, los extractos de botones florales de plantas en condiciones de DL y DC inhibieron significativamente la elongación del hipocótilo de lechuga; para el extracto de botones florales de plantas en DL entre los Rf 0,3-0,6 y 0,7-1,0 (figura 2b) y para el extracto de botones florales de plantas en DC entre el Rf 0,9-1,0 (figura 2c). La sustancia presente en la fracción ácida responsable de inhibir la elongación del hipocótilo de lechuga no debe ser de naturaleza fenólica, ya que durante el proceso de extracción se uso polivinilpirrolidona (PVP) para conjugar y eliminar los compuestos fenólicos (Andersen y Sowers, 1968).

Presencia de AIA y ABA

Con la finalidad de identificar los Rf de las fitohormonas patrón AIA y ABA y así poder asociarlos con el fenómeno

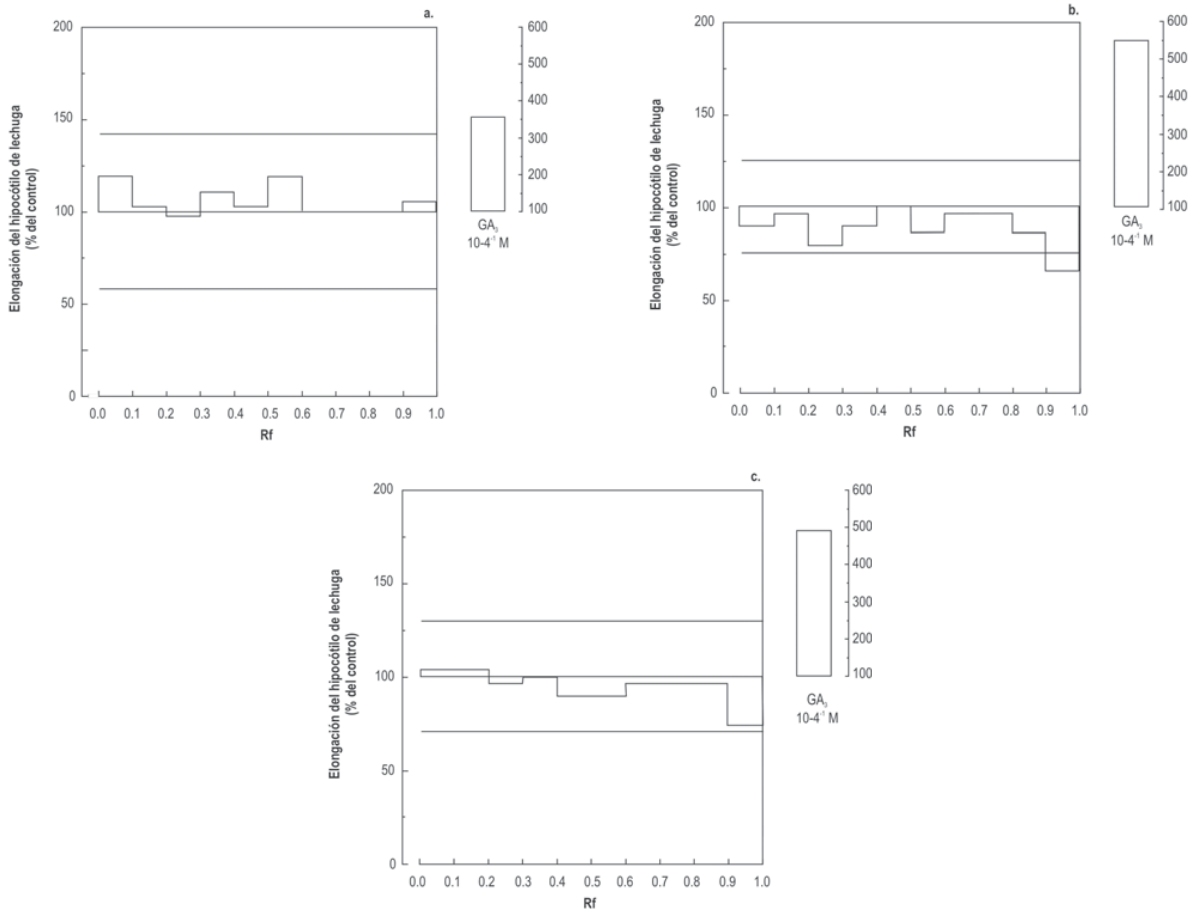

FIGURA 1. Sustancias de crecimiento detectadas en la fracción ácida, por el bioensayo de elongación del hipocótilo de lechuga, de extractos de 3 g de masa fresca de hojas de plantas de *Solidago* × *luteus*. a) extracto de hojas de plantas en el inicio de los tratamientos fotoperiódicos; b) extracto de hojas de plantas en DL (días largos de 18 h) y c) extracto de hojas de plantas en DC (días cortos de 8 h).

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 240 06/10/2008 19:40:30

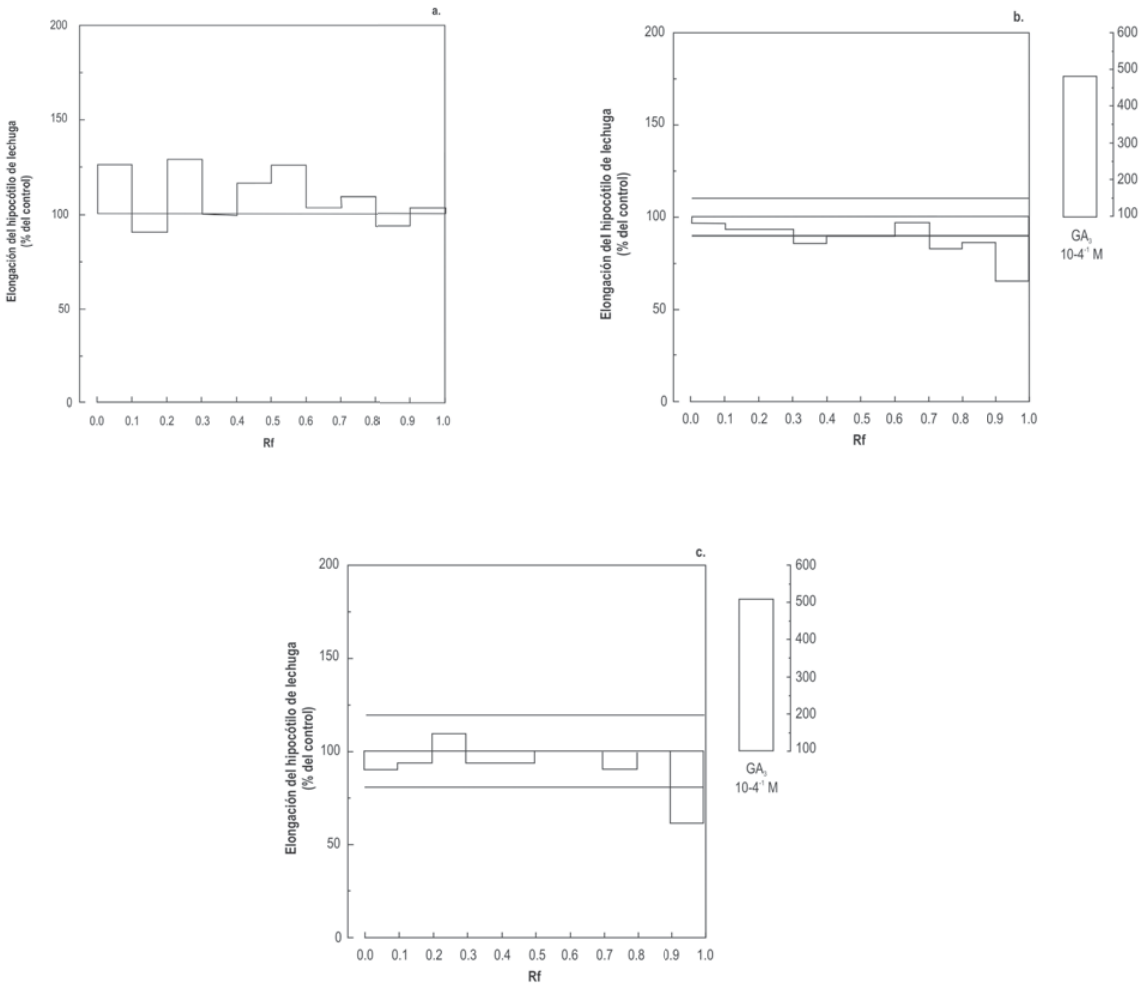

FIGURA 2. Sustancias de crecimiento detectadas en la fracción ácida, por el bioensayo de elongación del hipocótilo de lechuga, de extractos de 3 g de masa fresca de botones florales de plantas de *Solidago* × *luteus*. a) extracto de botones florales de plantas en el inicio de los tratamientos fotoperiódicos 18 h; b) extracto de botones florales de plantas en DL (días largos de 18 h) y c) extracto de botones florales de plantas en DC (días cortos de 8 h).

TABLA 1. Factores de retención (Rf) correspondientes a los patrones de AIA y ABA cromatografiados en gel de sílice, con sistema de solventes benceno : n-butanol : ácido acético (14:5:1), revelados con ultravioleta, solución de Salkowski y anisaldehído modificado.

Sustancias	**Reveladores**			**Rf**
	UV (254 nm)	Solución de Salkowski	Anisaldehído modificado	
AIA	oscuro	Anaranjado	Marrón	0,8
ABA	oscuro	Amarillo-limón	Verde-oliva	0,8

UV, ultravioleta; AIA, ácido indol-3-acético; ABA, ácido abscísico; Rf, factor de retención

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 241 06/10/2008 19:40:32

en estudio, se hizo una cromatografía de capa fina de gel de sílice, utilizando como sistema de solventes benceno : n-butanol : ácido acético (14:5:1). En la tabla 1 se muestran los Rf correspondientes a las fitohormonas patrón AIA y ABA, una vez revelados con UV a 254 nm, con solución de Salkowski y anisaldehído modificado; se verificó un Rf de 0,8, tanto para AIA como para ABA.

No se detectó efecto promotor significativo en la germinación de semillas de lechuga en los extractos foliares y de botones florales de plantas crecidas en DL (figuras 3a y b). Entretanto, el extracto foliar produjo la inhibición significativa de la germinación de semillas de lechuga en el rango del Rf 0,8-0,9 (figura 3a), que está próximo al valor medio de Rf de 0,75 para el ABA patrón cromatografiado en papel con isopropanol : amoniaco : agua (10:1:1) (Rudnicki y Antoszewski, 1968, citado por Kefeli, 1978). Cuando los patrones AIA y ABA se cromatografiaron con benceno : n-butanol : ácido acético (14:5:1), el mismo sistema de solventes usado en los cromatogramas de los extractos en el bioensayo del hipocótilo de lechuga, presentaron Rf de 0,8 (tabla 1), indicando que el inhibidor presente en la fracción ácida podría ser ABA, AIA o ambos.

Cromatografía líquida de alta eficiencia

Los extractos de la fracción ácida provenientes de hojas y de botones florales de plantas en el inicio de los tratamientos fotoperiódicos, de plantas en DL (18 h) y de plantas en DC (8 h) se analizaron por Clae con el objetivo de detectar AIA y ABA y establecer su posible participación en el control del desarrollo del botón floral hasta antesis. Se observó que el pico de absorción de ABA en el UV fue mayor a 254 nm que a 280 nm, pues, de acuerdo con Milborrow (1974), el espectro de absorción máximo ocurre en torno a 262 nm en condiciones ácidas; mientras que la absorción en el UV para AIA fue mayor a 280 nm que a 254 nm por causa de la estructura indólica del compuesto, cuyo espectro de absorción máxima en metanol está en torno a 282 nm (Harborne, 1984). En función de esto, el análisis de los extractos para ABA se hizo a 254 nm y para AIA, a 280 nm.

La tabla 2 presenta los resultados de las cuantificaciones de AIA y ABA, referentes a los extractos de la fracción ácida de tejido fresco de hojas y de botones florales de plantas al inicio de los tratamientos fotoperiódicos, en DL (18 h) y en DC (8 h), obtenidos comparando las áreas de los cromatogramas de las muestras con los cromatogramas patrón.

En comparación con las hojas de plantas en el inicio de los tratamientos fotoperiódicos, la concentración de AIA aumentó en hojas de plantas en DL y disminuyó en hojas de plantas bajo DC. Por otro lado, mientras que en los extractos de botones florales el contenido de AIA disminuyó a 1/7 para plantas en condiciones de DL, en botones de plantas en condiciones de DC no fue detectable; esto en relación con los botones florales de las plantas al inicio de los tratamientos fotoperiódicos (tabla 2).

En los extractos de hojas de plantas en DL y de plantas en DC con relación a las hojas de plantas en el inicio de los tratamientos fotoperiódicos, las concentraciones de ABA permanecieron constantes; entretanto, hubo una mayor concentración de ABA en botones florales de plantas en

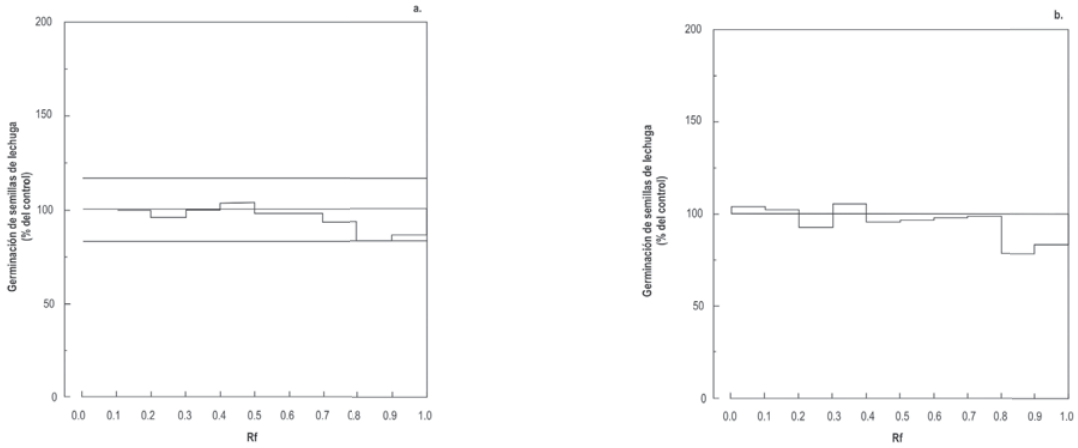

FIGURA 3. Actividad inhibidora detectada en la fracción ácida, por el bioensayo de germinación de semillas de lechuga, de extractos de 3 g de masa fresca de hojas y botones florales de plantas de *Solidago* × *luteus*. a) extracto de hojas de plantas en DL (días largos de 18 h) y b) extracto de botones florales de plantas en DL (días largos de 18 h).

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 242 06/10/2008 19:40:33

TABLA 2. Análisis de AIA a 280 nm y de ABA a 254 nm separadas por Clae de los extractos de hojas de plantas al inicio de los tratamientos fotoperiódicos (HIT), en días largos (HDL) y en días cortos (HDC), así como de los extractos de botones florales de plantas al inicio de los tratamientos fotoperiódicos (BIT), en días largos (BDL) y en días cortos (BDC).

Tratamiento	AIA	ABA
	(nmoles·g^{-1} de tejido fresco)	
HIT	968,3	540,5
HDL	1385,7	416,9
HDC	730,5	559,1
BIT	5263,8	389,2
BDL	798,4	343,3
BDC	ND	2196,3

AIA, ácido indol-3-acético; ABA, ácido abscísico; ND, no detectado

DC, con relación al extracto de botones florales al inicio de los tratamientos fotoperiódicos (tabla 2).

De forma general, las auxinas inhiben el florecimiento en PDC (plantas de día corto) (Jacobs, 1985), no existiendo efecto, o quizá, promoviendo el florecimiento en PDL (plantas de día largo). Los datos reflejan un ajuste general de la concentración de auxina a la longitud del día, en lugar de cambios debidos a la inducción floral (Krekule *et al*., 1985). El estudio de las concentraciones endógenas de AIA, usando cromatografía gaseosa acoplada al espectrómetro de masas (GC-MS), no se correlacionó con el gradiente floral *in vitro* presente en los tejidos de tallo de tabaco (Noma *et al*., 1984), mientras que en tabaco cv. 'Maryland Mammoth' (PDC) y en *Nicotiana silvestris* (PDL) la disminución de las concentraciones de AIA después de 10 d inductivos está de acuerdo con la hipótesis aceptada de que una concentración baja de AIA es prerrequisito para la inducción floral en PDC. Después de 20 d inductivos, las plantas están parcialmente inducidas y niveles más altos de auxina serían esenciales para estimular el crecimiento de los botones florales. El desarrollo posterior de botones florales y órganos requiere probablemente reducciones en los niveles de AIA (Lozhnikova *et al*., 1990).

A pesar de existir discrepancias en la literatura con respecto al sitio primario de acción de las auxinas, que podría ser en los cotiledones y las hojas de plantas de *Chenopodium rubrum* (PDC) y de *C. murale* (PDL) (Krekule *et al*., 1985) o en el meristemo apical en *C. rubrum* (Krekule y Privratsky, 1974; Seidlová y Khatoon, 1976), hay evidencias de que el AIA tendría su función, no solamente en la inducción floral en los cotiledones, sino también en eventos posteriores de desarrollo floral y de diferenciación en el ápice en *Pharbitis nil* (Kulikowska-Gulewska *et al*., 1995). Según Wardell y Skoog (1969), es necesario al menos 1 mM de AIA para el desarrollo de flores normales y de semillas maduras en cultivo *in vitro* de tejidos de tallo aislados de plantas florecidas de tabaco.

En rosas 'Baccara' el contenido de auxina alcanzó un pico en tallos florales y no florales de hasta 0,16 m de longitud. En longitudes mayores, el contenido de auxina permaneció constante en los tallos florales, aunque cayó considerablemente en los no florales (Zieslin y Halevy, 1976).

De acuerdo con Seidlová y Khatoon (1976), en *C. rubrum* el AIA tendría una doble acción, inhibiendo o estimulando la floración en diferentes estadios de desarrollo del ápice, de forma independiente a la inducción fotoperiódica. La auxina aplicada antes de la ramificación del meristemo inhibe el inicio de la diferenciación floral; sin embargo, aplicada en estadios más tardíos, inhibe los primordios de los botones axilares ya formados, permitiendo una rápida y completa diferenciación de la flor terminal.

Una mayor concentración de AIA en hojas y botones florales de plantas de *Solidago* × *luteus* en DL podría estar relacionada con una menor velocidad de antesis floral en DL; contrariamente, la disminución de AIA en las hojas y su ausencia en los botones florales en plantas bajo condiciones de DC podría estar relacionada con la mayor velocidad de antesis floral en DC. Con relación al inicio de los tratamientos fotoperiódicos, las mayores concentraciones de ABA se detectaron en hojas y botones florales de plantas en DC; así, en el balance AIA-ABA, estarían en concentraciones opuestas, principalmente en el botón floral en DC, en el que se observó la mayor cantidad de ABA y la ausencia de AIA.

Los bioensayos de extractos foliares de varias especies leñosas indicaron que las hojas contenían mayores concentraciones del 'inhibidor β' en DC que en DL. Las explicaciones posibles para las discrepancias en las observaciones de Wareing y Saunders (1971) fueron: los DC podrían reducir la concentración de promotores de crecimiento –por ejemplo, de giberelinas– que antagonizarían el ABA en el bioensayo, porque en cromatografía en papel con isopropanol:amoniaco:agua como fase móvil no se obtiene una buena separación entre ABA y varias giberelinas; de otro lado, los DC aumentarían el transporte de ABA de las hojas al ápice. La falta de control del estrés hídrico en las plantas experimentales llevaría a variaciones significativas en las concentraciones de ABA, que enmascararían la influencia de las condiciones fotoperiódicas sobre las concentraciones de la fitohormona.

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 243 06/10/2008 19:40:33

Zehni y Morgan (1976) sustentan la hipótesis de que en fotoperiodos largos se forman más sustancias inhibidoras del crecimiento en las hojas, incluyendo ABA, que se acumularían en los botones florales de las plantas de *Phaseolus* P47, de la misma forma que se acumulan sustancias promotoras, incluyendo giberelinas, las cuales promueven el crecimiento de tallo y peciolo. Bentley *et al.* (1975) encontraron en la misma variedad las mayores concentraciones de ABA en botones florales inhibidos en DL (18 h), en los que también se observaron cantidades considerables de ABA conjugado, en comparación con los botones florales de las plantas en DC (8 h), en los que el desarrollo floral fue normal. En hojas maduras de *Ricinus communis*, el ABA se sintetiza y metaboliza y, junto con sus metabolitos, es transportado vía floema para los ápices de la parte aérea (vertederos), donde, no siendo acumulado en gran cantidad, es metabolizado rápidamente, vía ácido faseico, a ácido dihidrofaseico; éste se acumula en los vertederos metabólicos como producto final de la vía metabólica (Zeevaart, 1977). Las hojas maduras o senescentes de *Lupinus luteus* también acumulan concentraciones elevadas de ABA conjugado (Weiler, 1980).

Para Pilate *et al.* (1990), en *Pseudotsuga menziesii* las concentraciones de ABA fueron dos veces mayores en los brotes axilares tratados con $GA_{4/7}$ más AIA (tratamiento que aumentó la iniciación floral) que en los brotes control. Las variaciones en las concentraciones de ABA-glucosil éster sugieren que este metabolito podría regular las concentraciones de ABA libre. De acuerdo con Brenner (1987), en soya el ABA es transportado de las hojas a las vainas en proceso de llenado. El ABA también sería transportado de las hojas hacia las raíces a través del floema y reciclado vía flujo xilemático para otros vertederos metabólicos.

Maldiney *et al.* (1986) cuantificaron AIA, ABA y el ribósido de zeatina por Elisa, luego de la separación por Clea, a partir de 100 mg de masa fresca de muestras de tomate y observaron también una situación opuesta entre AIA e ABA. Teniendo como referencia valores de masa fresca, se verificó que en la base del hipocótilo había 175 $ng \cdot g^{-1}$ de AIA y 4 $ng \cdot g^{-1}$ de ABA, mientras que en el ápice había 67 y 443 $ng \cdot g^{-1}$ de AIA y de ABA, respectivamente.

Con base en los resultados obtenidos se puede proponer que las giberelinas y los compuestos fenólicos no estarían involucradas en el proceso de desarrollo floral, mientras que AIA y ABA estarían presentes y en concentraciones opuestas, principalmente en el botón floral en DC, en donde se observó la mayor cantidad de ABA y la ausencia de AIA, posibilitando quizás una velocidad mayor de antesis floral en las plantas de *Solidago* × *luteus* en DC.

Literatura citada

Aloni R., E Aloni., M Langhans y C.I. Ullrich, 2006. Role of auxin in regulating *Arabidopsis* flower development. Planta 223, 315-328.

Andersen, R.A. y J.A. Sowers. 1968. Optimum conditions for bonding of plant phenols to insoluble polyvinylpyrrolidone. Phytochemistry 7, 293-301.

Bentley, B., C.B. Morgan, D.G. Morgan y F.A. Saad. 1975. Plant growth substances and effects of photoperiod on flower bud development in *Phaseolus vulgaris*. Nature 256,121-122.

Brenner, M.L. 1987. The role of hormones in photosynthate partitioning and seed filling. pp. 474-514. En: Davies, P.J. (ed). Plant hormones and their role in plant growth and development. Martinus Nijhoff Publisher, Dordrecht.

Brouillet, L. y J.C. Semple. 1981. A propos du status taxonomique de *Solidago ptarmicoides*. Can. J. Bot. 59, 17-21.

Dathe, W. y G. Sembdner. 1980. Endogenous plant hormones of the broad bean, *Vicia faba* L. II. gibberellins and plant growth inhibitors in floral organs during their development. Biochem. Physiol. Pflanzen 175, 599-610.

Durley, R.C., T. Kannangara y G.M. Simpson. 1978. Analysis of abscisins and 3-indolylacetic acid in leaves of *Sorghum bicolor* by high performance liquid chromatography. Can. J. Bot. 56, 157-161.

Felippe, G.M., I.F.M. Válio, M.F.A. Pereira, R.R. Sharif y S.R. Vieira. 1985. Fisiologia do desenvolvimento vegetal. Segunda ed. Editora da Unicamp, Campinas. 66 p.

Flórez-Roncancio, V.J. y M.F.D.A. Pereira. 1994. Desenvolvimento floral de *Solidaster* × *luteus* sob diferentes fotoperíodos. En: Memórias, X Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo, Santos (Brasil).

Flórez-Roncancio, V.J. y M.F.D.A. Pereira. 1995. Efeito da aplicação de giberelinas e citocininas sobre o desenvolvimento floral de *Solidaster* × *luteus*. En: Memórias, V Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, Lavras (Brasil).

Flórez-Roncancio, V.J., L.E.P. Peres, L.B.P. Zaidan y M.F.D.A. Pereira. 1996. Influência do fotoperíodo em interação com a temperatura no desenvolvimento de plantas de *Solidaster luteus*. Rev. Bras. Fisiol. Veg. 8, 131-138.

Frankland, B. y P.F. Wareing. 1960. Effect of gibberellic acid on hipocotyl growth of lettuce seedlings. Nature 185, 255-256.

Harborne, J. B. 1984. Phytochemical methods. Chapman and Hall, Londres. 288 p.

Hoagland, D. R. y D.I. Arnon. 1938. The water-culture method for growing plants without soil. Circular 347. California Agricultural Experimental Station, Berkeley. 39 p.

Jacobs, W. P. 1985. The role of auxin in inductive phenomena. Biol. Plant. 27, 303-309.

Kefeli, V. I. 1978. Natural plant growth inhibitors and phytohormones. Dr. W. Junk B.V. Publishers, La Haya. 277 p.

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 244 06/10/2008 19:40:34

Kinet, J. M., R.M. Sachs, y G. Bernier. 1985. The physiology of flowering. The development of flowers. Vol. 3. CRC Press, Boca Raton, FL. 274 p.

Krekule, J., L. Pavlová, D. Soucková y I Macháckova. 1985. Auxin in flowering of short-day and long-day *Chenopodium* species. Biol. Plant. 27, 310-317.

Krekule, J. y J. Prívratský. 1974. The shoot apex as the site of an inhibitory effect of applied auxin on photoperiodic induction of flowering in the short-day plant *Chenopodium rubrum* L. Z. Pflanzenphysiol. 71, 345-348.

Kulikowska-Gulewska, H., M. Cymerski, J. Czaplewska y J. Kopcewicz. 1995. IAA in the control of photoperiodic flower induction of *Pharbitis nil* Chois. Acta Soc. Bot. Pol. 64, 45-50.

Lozhnikova, V.N., I Macháckova, J. Eder, N. Dudko, J, Krekule y M.K.H. Chaïlakhyan. 1990. Changes in free IAA level in the leaves of short-and long-day tobacco during flowering and the effect of applied IAA on the transition to flowering. Biol. Plant. 32, 339-345.

Maldiney, R., B. Leroux, I. Sabbagh, B. Sotta, L. Sossountzov y E. Miginiac. 1986. A biotin-avidin-based enzyme immunoassay to quantify three phytohormones: auxin, abscisic acid and zeatin-riboside. J. Immunol. Methods 90,151-158.

McDaniel, C.N. y L.K. Hartnett. 1996. Flowering as metamorphosis: two sequential signals regulate floral initiation in *Lolium temulentum*. Development 122(11), 3661-3668.

Merck, E. 1971. Dyeing reagents for thin layer and paper chromatography. E. Merck, Darmstadt. 118 p.

Milborrow, B.V. 1974. The chemistry and physiology of abscisic acid. Ann. Rev. Plant Physiol. 25, 259-307.

Noma, M., N. Koike, M. Sano y Kawashima. 1984. Endogenous indole-3-acetic acid in the stem of tobacco in relation to flower neoformation as measured by mass spectroscopic assay. Plant Physiol. 75, 257-260.

Pilate, G., B. Sotta, R. Maldiney, M. Bonnet-Masimbert y E. Miginiac. 1990. Endogenous hormones in Douglas fir trees induced to flower by gibberellin A-$_{4/7}$ treatment. Plant Physiol. Biochem. 28, 359-366.

Seidlová, F. y S. Khatoon. 1976. Effects of indol-3yl-acetic-acid on floral induction and apical differentiation in *Chenopodium rubrum* L. Ann. Bot. 40, 37-42.

Wardell, W.L. y F. Skoog. 1969. Flower formation in excised tobacco stem. I. Methodology and effects of plant hormones. Plant Physiol. 44, 1402-1406.

Wareing , P.F. y P.F. Saunders.1971. Hormones and dormancy. Annu. Rev. Plant Physiol. 22, 261-288.

Webb, D.P. y P.F. Wareing. 1972. Seed dormancy in *Acer*: endogenous germinating inhibitors and dormancy in *Acer pseudoplatanus* L. Planta 104, 115-125.

Weiler, E.W. 1980. Radioimmunoassays for the differential and direct analysis of free and conjugated abscisic acid in plant extracts. Planta 148, 262-272.

Wilson, R.N., J.W. Heckman y C.R. Somerville. 1992. Gibberellin is required for flowering in *Arabidopsis thaliana* under short days. Plant. Physiol. 100, 403-408

Zeevaart, J.A.D. 1977. Sites of abscisic acid synthesis and metabolism in *Ricinus communis* L. Plant Physiol. 59, 788-791.

Zehni, M.S. y D.G. Morgan. 1976. A comparative study of the effects of photoperiod on flower bud development and stem elongation in three varieties of *Phaseolus vulgaris* L. Ann. Bot. 40, 17-22.

Zieslin, N. y A.H. Halevy. 1976. Flower bud atrophy in Baccara roses. IV. The activity of various growth substances in leaves of flowering and non-flowering shoots. Physiol. Plant. 37, 317-325.

AGRONOMIA 26-2 -PROFE194).indd 245 06/10/2008 19:40:34