

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA VEGETAL

EFFECTO DEL AIA Y DEL TRIPTOFANO SOBRE LA GERMINACION DE SEMILLAS DE *Phaseolus vulgaris*, L. var. eagle.

Sánchez-Calle, I.M.

RESUMEN

Se estudió el efecto del ácido indolacético (AIA), sobre la emergencia radical y el crecimiento de las semillas de *Phaseolus vulgaris*, L. var. eagle, y también sobre la producción de etileno.

El AIA (10^{-4} M) promueve la germinación, pero a concentraciones superiores a esa, la inhibe. La longitud de la radícula se incrementa al aumentar la concentración exógena de AIA, y al suprimir la cubierta seminal.

El órgano de mayor producción de etileno fue el eje embrionario aislado. La producción de gas se incrementó con los tratamientos de AIA y triptófano en todos los materiales vegetales estudiados.

SUMMARY

The effect of indole-acetic acid (IAA) on radicle emergence and growth in *Phaseolus vulgaris*, L. var. eagle seeds has been studied, together with its effect on ethylene production.

Concentrations 10^{-4} M of exogenous IAA increase germination. Concentrations of more than 10^{-4} M results in diminished germination.

Decoating the seed stimulates the growth of the embryonic axis and this effect is enhanced by IAA and tryptophan.

The embryonic axis produces the greatest quantity of gas. The presence of IAA in the germination medium always increased the rate of ethylene production for each of the vegetable materials used.

INTRODUCCION

La germinación de las semillas está regulada, entre otros factores, por la interacción entre fitohormonas (2). El control hormonal de la germinación puede llevarse

a cabo a través del crecimiento del eje embrionario y/o de la destrucción de la cubierta de la semilla (4). La existencia de AIA en las semillas y el hecho de que su contenido aumente en respuesta a cambios en las condiciones que favorecen la germinación, puede indicar que esta hormona tenga algún papel en dicho proceso. Aunque no está clara la función que tienen las auxinas en la germinación, pudieran ser importantes, al menos para la división celular y la elongación de las células del embrión en crecimiento (12, 3). Desde hace bastante tiempo, se ha observado que el etileno estimula la germinación de las semillas, tanto durmientes como quiescentes, y además, los tratamientos que rompen la dormancia de algunas semillas, causan normalmente una producción de etileno endógeno, el cual aparentemente es el que origina la ruptura de la dormancia (8). Sin embargo, no está claro si el etileno endógeno juega algún papel en la regulación de la germinación de las semillas no durmientes (5). El AIA induce la producción de etileno en gran número de plantas, atribuyéndose en la actualidad al gas inducido, muchos de los efectos que ejerce la auxina sobre el crecimiento (13).

En este trabajo se analiza el efecto que presenta el AIA y su precursor triptófano, sobre el etileno desprendido en diferentes tejidos de semillas de *Phaseolus vulgaris*, L. var. eagle, relacionándolo con el porcentaje de germinación y el crecimiento del eje embrionario.

MATERIAL Y METODOS

Medidas de germinación y elongación

Se seleccionaron semillas de judía (*Phaseolus vulgaris*, L. var. eagle) de tamaño uniforme y se esterilizaron superficialmente durante 15 minutos con Cl_2Hg al 2,5% y después se lavaron en agua destilada estéril. Las semillas se imbibieron durante 6 horas y a continuación se pusieron a germinar a 25° C en oscuridad, un máximo de 96 horas, en presencia de agua o de la correspondiente solución de AIA o triptófano. Para los tratamientos en los que se necesitaron cotiledones, ejes embrionarios y semillas sin cubierta, estos órganos se separaron asépticamente una vez terminado el período de imbibición. El crecimiento del eje embrionario se determinó midiendo su longitud, en mm, a diferentes intervalos de germinación. Se consideraba que una semilla había germinado cuando se producía la emergencia visible de la radícula (9).

Medidas de etileno

Las semillas o sus órganos, en número de 10, se transfirieron asépticamente a frascos de 50 ml que contenían 5 ml de agua o del tratamiento correspondiente y cloranfenicol a 50 $\mu\text{l/ml}$. Los frascos se cerraron con tapones de rosca provistos de un septum de silicona y se incubaron a 25° C en oscuridad. Se tomaron 2 ml de muestra gaseosa de los frascos con una jeringa hipodérmica y se analizó por cromatografía gaseosa (10). La producción de etileno se determinó a intervalos de 24 horas y una vez realizada la medida, se airearon los frascos. Cada experimento se repitió cuatro veces.

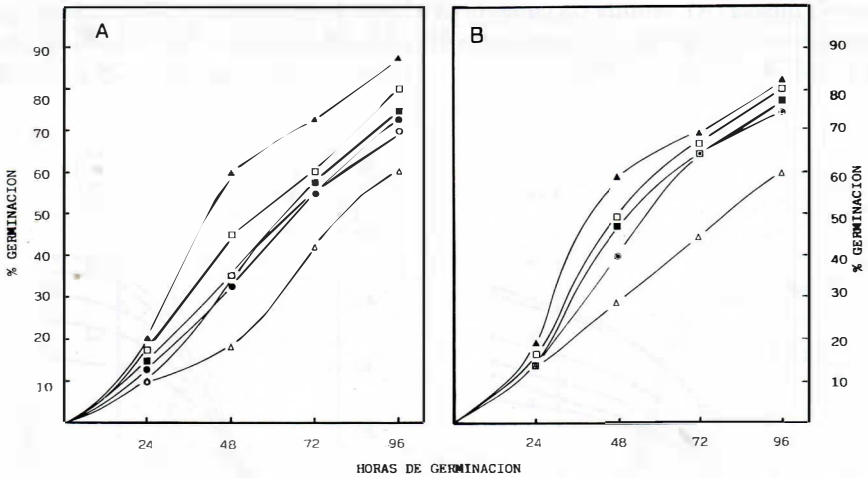


Fig. 1. Porcentaje de germinación de semillas tratadas con concentraciones crecientes de AIA (A) y triptófano (B), durante las primeras 96 horas. (● Testigo, ○ 10⁻⁷M, ■ 10⁻⁶M, □ 10⁻⁵M, ▲ 10⁻⁴M, △ 10⁻³M).

Análisis estadístico

Se ha basado en la realización de análisis de varianza de dos direcciones y test de "t-Student" para el estudio de la diferencia entre medias.

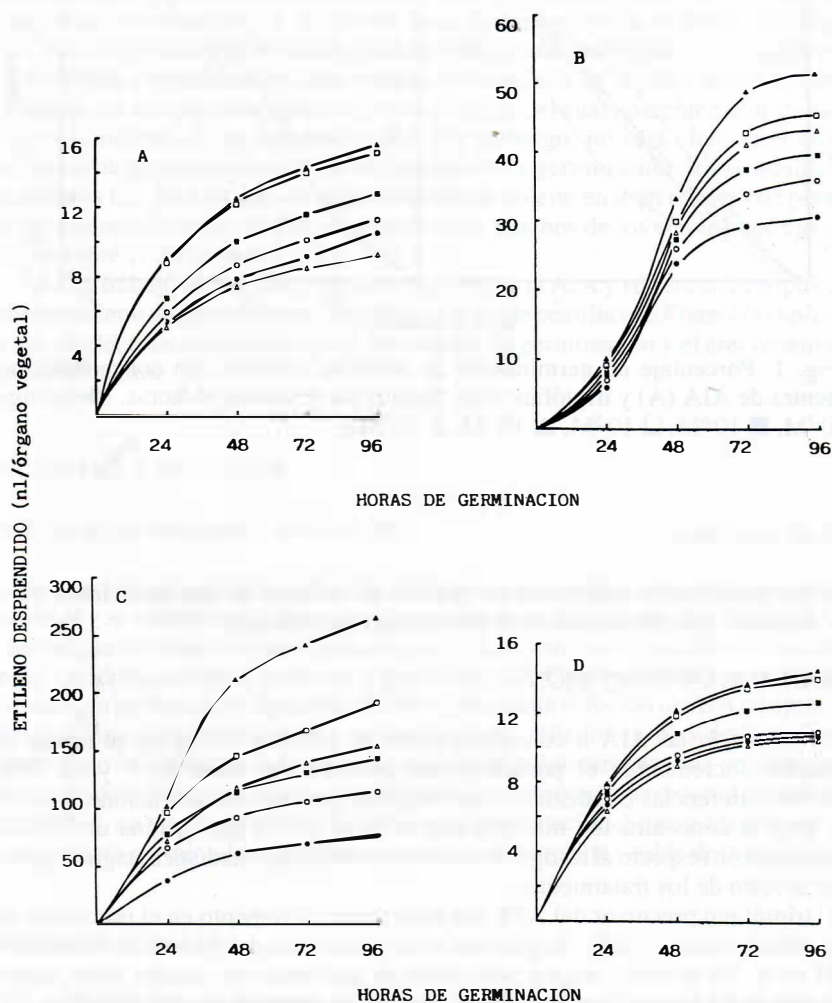
RESULTADOS Y DISCUSION

La presencia de AIA a concentraciones de 10⁻⁷M y 10⁻³M en el medio de incubación incrementan el porcentaje de germinación entre un 5 y un 39%, existiendo diferencias estadísticas significativas, para las concentraciones a 10⁻⁶M (Fig. 1A). la concentración más efectiva es la de 10⁻⁴M que origina un 38% de incremento con respecto al testigo, existiendo diferencias estadísticas significativas frente al resto de los tratamientos.

El triptófano precursor del AIA, también causa incremento en el porcentaje de germinación, entre 1 y 20%. Al igual que ocurre en el caso del AIA, la concentración 10⁻⁴M es la que provoca mayor porcentaje de germinación, aunque tiene menos efecto que la misma concentración de AIA sobre la emergencia radicular (Fig. 1B).

En la Tabla I se puede observar que la eliminación de la cubierta seminal causa mayor crecimiento del eje radicular. El AIA, así como el triptófano, incrementa la longitud de la radícula de las semillas de judía de forma paralela, siendo el incremento tanto mayor, cuanto mayor es la concentración de la fitohormona o de su precursor, excepto para la concentración más alta, existiendo diferencias estadísticas significativas entre todos los tratamientos y el control. La ausencia de tejido de reserva parece favorecer el crecimiento de la radícula, lo que puede deberse a la falta

Fig. 2. Etileno desprendido (nl/órgano vegetal) durante las primeras 96 horas, en semilla intacta (A), semilla sin cubierta (B), eje embrionario (C) y cotiledones (D), tratados con concentraciones crecientes de AIA (● Testigo, ○ 10^{-7} M, ■ 10^{-6} M, □ 10^{-5} M, ▲ 10^{-4} M, △ 10^{-3} M).

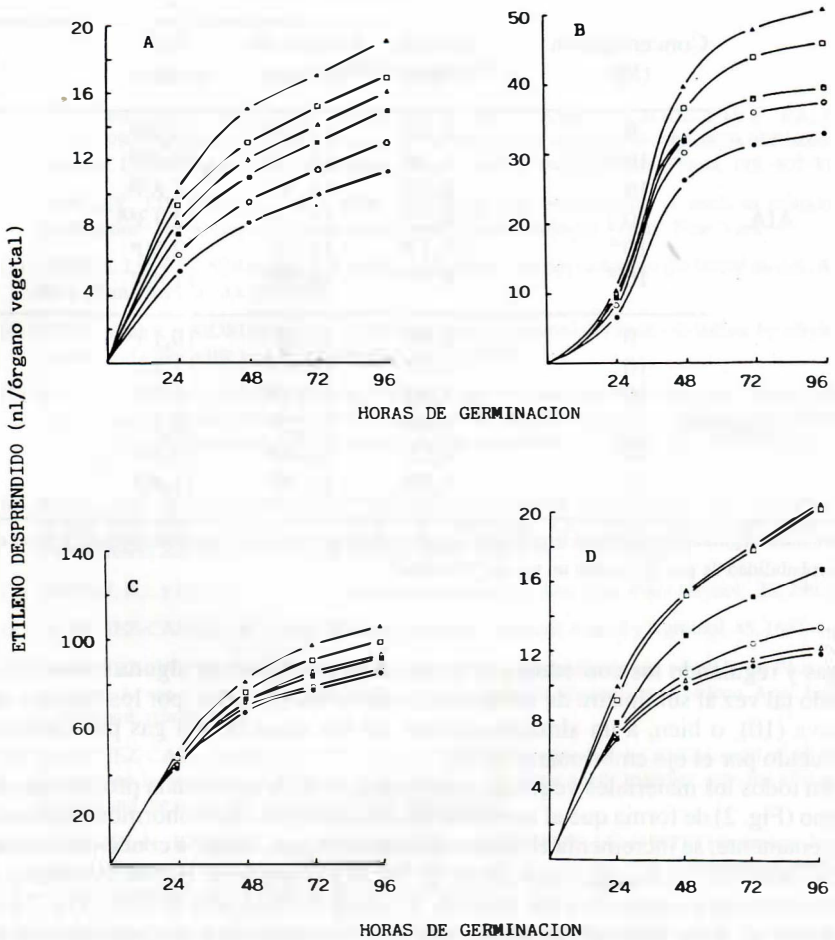


de suministro de inhibidores tales como el ABA por los cotiledones (10), regulando éstos el crecimiento y desarrollo del eje de alguna forma.

Los resultados de producción de etileno con concentraciones crecientes de AIA y triptófano se encuentran en las Figs. 2 y 3.

De todos los materiales vegetales estudiados, es el eje embrionario aislado (Fig. 2C y 3C) el que produce mayor cantidad de etileno, aproximadamente 8 veces más

Fig. 3. Etileno desprendido (nl/órgano vegetal durante las primeras 96 horas, en semilla intacta (A), semilla sin cubierta (b), eje embrionario (C) y cotiledones (D), tratados con concentraciones crecientes de triptófano (● Testigo, ○ 10^{-7} M, ■ 10^{-6} M, □ 10^{-5} M, ▲ 10^{-4} M, △ 10^{-3} M).



que la semilla intacta (Figs. 2 A y 3 A), por otra parte, los cotiledones aislados (Figs. 2 D y 3 D) y la semilla intacta producen cantidades de etileno muy similares. Además, al eliminar la cubierta de la semilla, aumenta el desprendimiento de etileno produciendo la semilla sin cubierta (Figs 2 B y 3 B) un 289% más de gas que la semilla intacta a las 96 horas de germinación. El desprendimiento de etileno debe estar relacionado con el crecimiento del eje, que es mayor en semilla sin cubierta que en semilla intacta (Tabla I), siendo en el eje donde se lleva a cabo la mayor síntesis

TABLA I

Longitud final de la radícula (mm) en semilla intacta, sin cubierta seminal y eje embrionario aislado, tratados con concentraciones crecientes (M) de AIA y triptófano. Cada valor es la media de cuatro repeticiones.

	Concentracion (M)	Material vegetal		
		Semilla intacta	Semilla sin cubierta	Eje aislado
AIA	0	6,41 ^f	12,13 ^c	10,08 ^c
	10 ⁻⁷	7,18 ^c	13,25 ^d	10,90 ^d
	10 ⁻⁶	8,07 ^d	14,20 ^c	11,65 ^b
	10 ⁻⁵	9,22 ^b	15,25 ^b	12,13 ^{a,b}
	10 ⁻⁴	10,37 ^a	16,55 ^a	12,50 ^a
	10 ⁻³	8,71 ^c	14,30 ^c	11,45 ^c
Triptófano	0	6,48 ^c	12,48 ^c	10,15 ^d
	10 ⁻⁷	7,10 ^d	13,40 ^d	11,15 ^c
	10 ⁻⁶	7,90 ^c	14,90 ^b	11,95 ^b
	10 ⁻⁵	9,06 ^a	15,25 ^a	12,23 ^{a,b}
	10 ⁻⁴	10,55 ^a	16,40 ^a	12,58 ^a
	10 ⁻³	9,50 ^b	13,98 ^c	11,40 ^c

a-f Medidas seguidas por la misma letra dentro de cada columna, no difieren estadísticamente, al nivel de probabilidad de $p=0.05$, según un test de "t-Student".

de gas y regulando los cotiledones la producción de etileno de alguna forma (11), debido tal vez al suministro de inhibidores, tales como el ABA, por los órganos de reserva (10), o bien, a un almacenamiento, en los mismos, del gas previamente producido por el eje embrionario (6, 1).

En todos los materiales vegetales estudiados, el AIA aumenta la producción de etileno (Fig. 2) de forma que al aumentar la concentración de fitohormona aplicada exógenamente, se incrementa el desprendimiento de gas, hasta la concentración de 10^{-4} M ($p=0.001$). A la concentración de 10^{-3} M, la liberación de etileno es inferior a la obtenida con la concentración anterior. En el eje embrionario aislado (Fig. 2 C), es donde el AIA tiene un efecto más acusado, presentando a la concentración de 10^{-4} M un 241% sobre el control a las 96 horas de fermentación; esto es lógico si se piensa que es en el eje donde se lleva a cabo la mayor síntesis de etileno. En la semilla intacta (Fig. 2A) y en los cotiledones (Fig. 2D), el AIA tiene un efecto similar.

El precursor del AIA, triptófano (7), al igual que la fitohormona, aumenta la producción de etileno en todos los materiales vegetales estudiados (Fig. 3), siendo la concentración de 10^{-4} M, la que provoca mayor desprendimiento de etileno y el eje embrionario aislado (Fig. 3 C) el material vegetal en el que presenta mayor efecto, no existiendo diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos de triptó-

fano y de AIA para ninguno de los materiales vegetales estudiados, por lo que el triptófano podría tener su acción a través de su conversión en AIA.

El AIA podría aumentar el crecimiento del eje embrionario, activando la división y elongación de sus células, aumentando así la emergencia radicular y parece posible que la estimulación del AIA sobre la germinación se pueda deber a la activación de la producción de etileno.

BIBLIOGRAFIA

- (1) BENGOCHEA, T., ACASTER, M.A., DODDS, J.H., EVANS, D.E., JERIE, P.H. y HALL, M.A. (1980). Studies on ethylene binding by cell free preparations from cotyledons of *Phaseolus vulgaris*, L. II. Effects of structural analogues of ethylene and inhibitors. *Planta*, 148, 407-411.
- (2) BEWLEY, J.D. y BLACK, M. (1982). *Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination*. 1. Development, germination and Growth. Springer-Verlag. New York.
- (3) COHEN, J.D. y BANDURSKI, R.S. (1982). Chemistry and physiology of the bound auxins. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 33, 403-430.
- (4) DUNLAP, J.R. y MORGAN, P.W. (1977). Reversal of induced dormancy in lettuce by ethylene, kinetin and gibberellic acid. *Plant Physiol.*, 60, 222-224.
- (5) FU, J.R. y YANG, S.F. (1983) Release of heat pretreatment-induced dormancy induced dormancy in lettuce seeds by ethylene or cytokinin in relation to the production of ethylene and the synthesis of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid during germination. *J. Plant Growth Regulation*, 2, 185-192.
- (6) HALL, M.A. ACASTER, M.A., BENGOCHEA, T., DODDS, J.H., EVANS, D.E., JONES, J.F., JERIE, P.H., MUTUMBA, G.C., NIEPEL, B. y SHAARI, A.R. (1979). Ethylene and seeds. En: *Plant Growth Substances*. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. New York.
- (7) MIFLIN, B.J. y LEA, P.J. (1977) Amino acid metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 28, 299-329.
- (8) SANCHEZ-CALLE, I.M. (1986) Etileno y germinación. *Anal. Edafol y Agrobiol.* 45, 1641-1654.
- (9) SANCHEZ-CALLE, I.M. y MATILLA, A.J. (1987). Germinación de semillas de *Phaseolus vulgaris*, L. var. Eagle. I. Papel del ácido giberélico sobre la producción de etileno. *Anal. Edafol y Agrobiol.* (En prensa).
- (10) SANCHEZ-CALLE, I.M. y MATILLA, A.J. (1988). The alteration by abscisic acid of ethylene production in germinating *Phaseolus vulgaris*, L. cv. Eagle seeds together with the effects of kinetin and the seed coat. *J. Agric. Medit.* (En prensa).
- (11) SEYEDIN, N., BURRIS, J.S., LAMOTTE, C.E. y ANDERSON, J.C. (1982) Temperature dependent inhibition of hypocotyl elongation in some soybean cultivars. I. Localization of ethylene evolution and role of cotyledons. *Plant Cell Physiol.* 23, 427-231.
- (12) WALTON, D.C. (1966). Germination of *Phaseolus vulgaris*, I. Resumption of axis growth. *Plant Physiol.* 41, 298-302.
- (13) YANG, S.F. y HOFFMAN, N.E. (1984) Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 35, 155-189.