

EFFECTOS DE LOS ACIDOS INDOLACETICO Y GIBERELICO SOBRE EL CRECIMIENTO DE « SCENEDESMUS OBLIQUUS » *

POR JUAN ACCORINTI

INTRODUCCION

La finalidad del presente trabajo ha sido estudiar los efectos que producen los reguladores hormonales, ácidos indolacético (AIA) y giberélico (AG), sobre el crecimiento del alga *Scenedesmus obliquus*, bajo condiciones controladas.

Varios investigadores han tratado de determinar la acción hormonal del AIA sobre distintas especies de algas. Leonian y Lilly (1937), trabajando con *Chlorella miniata*, *C. pyrenoidosa*, *Cystococcus cohaerans*, *Oocystis naegelli* y *Scenedesmus flavescens*, hallaron sin excepción que las concentraciones altas (1 : 10.000) resultan tóxicas, mientras que las bajas (1:10.000.000) no producen ningún estímulo. Yin (1937) ensayó el AIA sobre *Chlorella vulgaris* y obtuvo aumento del tamaño celular con 0,04 mg/ml, coincidiendo con los trabajos anteriores en que altas concentraciones inhibieron su crecimiento. Pratt (1938) usando 10 y 50 ppm de AIA, registró una aceleración de la multiplicación celular de *Chlorella vulgaris*. Ensayó además sobre dicha especie los ácidos indolpropiónico (AIP) e indolbutírico (AIB), comprobando que éstos ejercen también efectos estimulantes, aunque en menor grado que el AIA.

Brannon y Bartsch (1930) estudiaron el efecto de cinco ácidos orgánicos monobásicos sobre la reproducción y tamaño celular en *Chlo-*

* Tesis para optar al grado de doctor en Ciencias Naturales, en la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires.

rella vulgaris, *Coccomyxa simplex* y *Mesotaenium caldariorum*. Distintas concentraciones de AIA, AIB, ácido naftalenacético (ANA), AIP y ácido fenoxiacético (AFA), estimularon la reproducción de *Chlorella* y *Coccomyxa*, pero no la de *Mesotaenium*. No ejercieron efecto en el tamaño de las dos primeras especies, mientras que el AIA y el AIB causaron una tendencia al alargamiento celular de *Mesotaenium*. Leonian y Lilly (1941) comprobaron que los AIA y AFA incrementan la multiplicación de *Chlorella vulgaris* en presencia de glucosa, pero que el efecto disminuye notablemente en su ausencia.

Como puede observarse, mientras algunos autores obtuvieron resultados positivos en el estímulo del crecimiento celular, otros no apreciaron dichos efectos. Esto hace pensar que el AIA, cuando se usa a bajas concentraciones, actúa según el contenido natural de auxinas en el alga, el cual podría variar con las condiciones de cultivo.

Sobre el AG existe una extensa bibliografía en lo que se refiere a estudios efectuados con plantas superiores, pero no hemos encontrado en la misma ningún ensayo con algas unicelulares.

Provasoli (1958) ensayó el AG sobre la especie marina talosa *Ulva lactuca*, determinando que promueve el alargamiento de los filamentos.

Si bien en el presente trabajo se han estudiado las acciones del AIA y del AG en forma separada, la bibliografía señala un efecto sinérgico entre ambos compuestos. Así Kato (1955) usando GB (giberelina) en concentraciones de 0,01-10 mg/l, halló que se acelera la germinación de esporos y el crecimiento del protalo de *Dryopteris erythrosora*, al parecer como consecuencia del alargamiento de las células, más que de la división celular y que tallos de *Vigna sesquipedalis* tratados con 0,01 %, aumentaron su crecimiento longitudinal. Concluye que el efecto fisiológico de GB es diferente al de AIA. Pilet (1957) sostiene que las GB inducen inhibición en los sistemas auxino-oxidásicos, o sea que disminuyen la inactivación enzimática *in vivo* de las auxinas, favoreciendo, en consecuencia, su acumulación en los tejidos tratados. Llegó a estas conclusiones luego de observar la influencia de GB sobre el metabolismo de las hormonas de crecimiento en cultivos de tejidos de zanahoria *in vitro*. En la discusión menciona que algunos autores consideran a las GB como verdaderas auxinas, otros admiten que existe entre las GB y las hormonas de crecimiento un sinérgismo bioquímico, mientras que algunos sostienen que las GB activarían la transformación del l-triptofano en auxinas. Schroeder y Spector (1957), trabajando sobre mesocarpo maduro de *Citrus*

medica, hallaron que el AG es capaz de estimular la formación de callo en dicho tejido. En presencia de AIA, el AG a 0,5 ppm causa un marcado aumento de peso. El efecto estimulante aumenta hasta una concentración de 25 ppm.

Van Overbeek et al. (1957) comprobaron que el coleoptile de *Avena* responde a las auxinas, pero muy poco a las GB, mientras que la hojuela incluida en la parte basal del coleoptile responde activamente a las GB, pero no a las auxinas. Concluyen que las GB aumentan la acción de las auxinas en el ápice del coleoptile, mientras que éstas inhiben la acción de las GB en la hojuela. Whaley y Kephart (1957) estudiaron sobre segmentos apicales de raíces primarias, el efecto del AG y del AIA, comprobando que el alargamiento es máximo con una combinación de ambos compuestos a un nivel intermedio.

Brian y Hemming (1957), trabajando con arvejas enanas encontraron que el AG sólo produce alargamiento significativo de secciones de internodios, en presencia de auxinas. El máximo alargamiento lo obtuvieron aplicando una mezcla de 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de AIA y 0,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de AG. Estos mismos autores (1958) hallaron que internodios de arvejas pre-tratados con AG y auxinas, se alargan más rápidamente *in vitro*, que aquellos tratados sólo con auxinas.

Wareing (1958) trabajando con vástagos de *Acer pseudoplatanus* y aplicando AIA y AG, respectivamente, a las concentraciones de 0,5-0,1 mg y 1,0-0,5 mg por g de lanolina, observó que la aplicación de ambos produce una zona de xilema mayor que con la sola aplicación del AIA. Supone el autor que el efecto del AG sería el de estimular la división del cambium y el del AIA, la vacuolización y lignificación de los derivados resultantes del mismo.

Kato (1958) estudió la interacción AG-auxinas en *Phaseolus vulgaris* encontrando que el AG promueve el crecimiento de las yemas laterales. No obstante el ANA inhibe el crecimiento provocado por el AG cuando se aplica a igual dosis y en forma simultánea. Pero cuando el AG se aplica a una dosis 5 veces superior al ANA, el crecimiento recomienza a pesar de la presencia de la auxina. Galston y Warburg (1959) observaron sinergismo entre el AG y AIA, cuando el AG se aplica basalmente a una sección de epicotilo de arveja y AIA a la parte apical. Vale decir, que aplicados en esta forma, producen mayor crecimiento que si se aplican juntos. Consideran que tales resultados pueden interpretarse en términos de un "tercer factor", necesario para la interacción AG-AIA.

Material y método

Se trabajó con cultivos unialgales de *S. obliquus* obtenidos en forma masiva en el laboratorio, mediante una modificación del medio de cultivo de Detmer. Se dispuso así de material en cantidad suficiente para la realización de los ensayos.

Las técnicas de obtención de dichos cultivos se detallan en un trabajo previo: "Cultivo unialgal y masivo de *Scenedesmus obliquus* T. Ktz. Técnicas de obtención", donde se indica que el cultivo unialgal procede de un cenobio de cuatro células, aislado por micro-manipulación, previos lavados y aislamientos selectivos en medios sólidos y líquidos. Se destaca asimismo que la modificación efectuada al medio incrementó la multiplicación del alga en 811 % respecto del Detmer original, en sólo seis días de tratamiento, comprobándose que la agitación confirió al cultivo un incremento de 365 %, lo que produjo un aumento total de 1.176 %.

Al Detmer original (Sin FeCl_3) se le añadió tartrato férrico y los micronutrientes B, Mn, Zn y Cu, preparados en dos soluciones en la forma siguiente: 1) Solución "madre" de tartrato férrico: se mezclaron 5 g de cloruro férrico con 5 g de ácido tartárico y se llevaron a 1.000 ml con agua destilada (Meyer y Anderson, 1941). 2) Solución "madre" de micronutrientes: H_3BO_3 : 2,86 g (0,5 ppm de B), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 1,81 g (0,5 ppm de Mn), ZnCl_2 : 0,11 g (0,5 ppm de Zn), CuCl_2 : 0,05 g (0,02 ppm de Cu); se solubilizaron y se llevaron a 1.000 ml con agua destilada. Las concentraciones de B, Mn, Zn y Cu se tomaron de Arnon (1938), reemplazándose los sulfatos de zinc y cobre por los cloruros respectivos.

Cada litro de solución Detmer original (sin FeCl_3) se diluyó en la proporción de 1 por 3 de agua destilada y luego se agregaron 1 ml por litro de cada una de las soluciones (1 y 2), obteniéndose las concentraciones en ppm mencionadas. Se ajustó el pH a neutralidad y se esterilizó en autoclave 15 minutos a 120° C.

Condiciones de los ensayos: a) El pH fue ajustado en todos los ensayos a 6,8, previamente a la esterilización del medio nutritivo. b) La intensidad de luz recibida por los cultivos fue de 2.800 lux. c) La temperatura se mantuvo constante a 28° C, sumergiendo los cultivos en un baño termostático. d) La agitación se obtuvo por burbujeo de aire en el seno del medio líquido, mediante conexión

de los tubos cultivos a una trompa de vacío. e) La densidad de la siembra fue siempre la misma para todos los ensayos. En cada caso, los 10 ml de medio, contenían un inoculum de 400 células por mm^3 , procedentes de cultivos de enriquecimiento mantenidos al efecto. Los recuentos se efectuaron con cámara de Neubauer.

La solución "madre" de AIA se preparó en la siguiente forma: 100 mg de AIA se agregaron a 35 ml de agua destilada, disolviéndose por neutralización con solución al 1 % de NaOH, hasta obtener pH 6,8. Se llevó luego a volumen de 50 ml con agua destilada. Fue ensayado a las concentraciones de 0,5, 1, 5, 10, 30, 50, 70 y 90 ppm.

El AG se preparó solubilizando 28 mg de droga¹ en agua destilada, llevando luego a volumen de 100 ml, obteniéndose así una solución "madre" de 280 ppm. A partir de ésta se efectuaron las diluciones correspondientes. Las condiciones de los ensayos (medio de cultivo, pH, intensidad de luz, temperatura y agitación) fueron iguales a las de los tratamientos con AIA. Las mediciones de las células se efectuaron con micrómetro ocular. Se ensayó a las concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50 y 60 ppm.

El procedimiento adoptado para los ensayos definitivos, en los tratamientos con AG, fue el siguiente: Las muestras para efectuar los recuentos y mediciones, se tomaron todas al mismo tiempo y se llevaron a pequeños tubos. Se tomó 0,2 ml de cada muestra y, usando micropieta de $9,3\mu\text{l}$ se agregó a cada una $18,6\mu\text{l}$ de lactofenol cúprico al 50 % (fijador que actuó sobre las algas aproximadamente al 5 %) fijando el material sin deformarlo. Se evitó así el crecimiento posterior de las algas tomadas como muestras, al mismo tiempo que eran conservadas por tiempo indefinido.

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Tratamiento con AIA:

Los resultados se exponen en los gráficos *1a*, *b*, *c* y *d* y en el gráfico 2, donde se consigna la población obtenida a partir de la fecha de siembra, los días 1º, 2º, 4º y 5º para las concentraciones de 10 a 90 ppm y los días 1º, 2º, 4º y 6º para las de 0,5 a 5 ppm.

¹ Procedencia : Pfizer & Co. Lot. N° 76.088

Como puede observarse, el AIA a las concentraciones de 10, 30, 50, 70 y 90 ppm produjo inhibición en la multiplicación de *S. obliquus*. Dicho efecto se manifestó en forma progresiva, al aumentar la

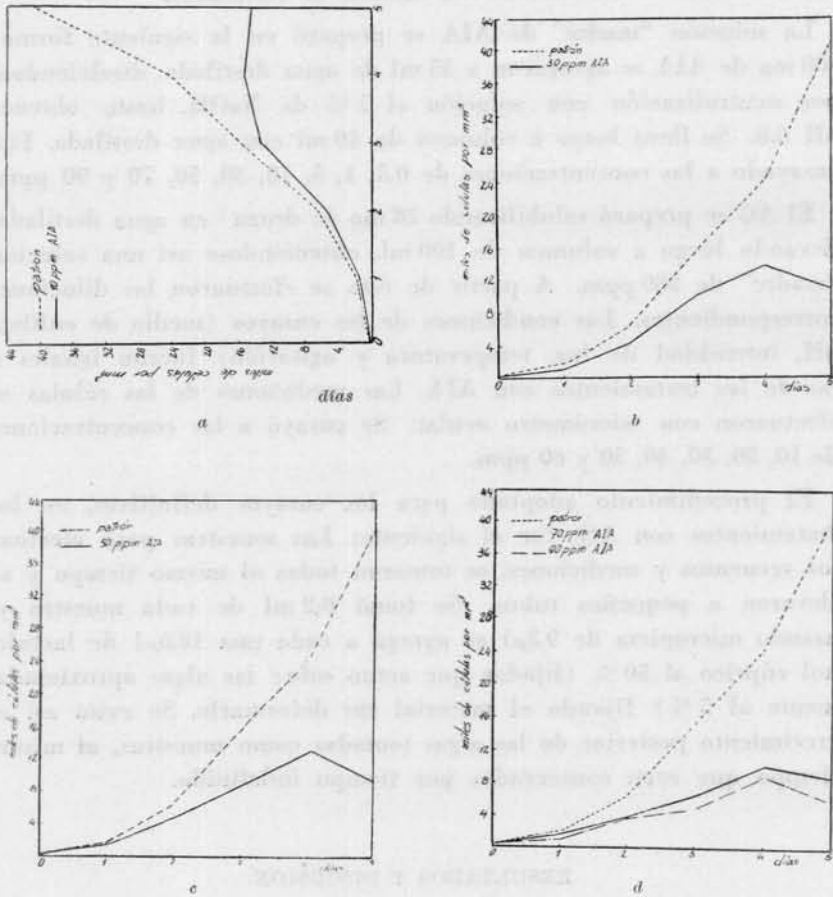


Gráfico 1. — Efectos del AIA sobre la multiplicación de *S. obliquus*

concentración, produciéndose además la aparición de inclusiones anormales, deformaciones celulares y en algunos casos la ruptura de la célula. También se observó la pérdida paulatina del contenido celular, quedando sólo las paredes.

Las concentraciones de 0,5, 1 y 5 ppm, si bien no produjeron efectos inhibitorios, tampoco ejercieron acción estimulante.

2. Tratamiento con AG. Ensayos preliminares:

Al principio se efectuaron observaciones visuales sin un recuento del cultivo. En general se comprobó que concentraciones elevadas (40, 50 y 60 ppm) producían una disminución del crecimiento ma-

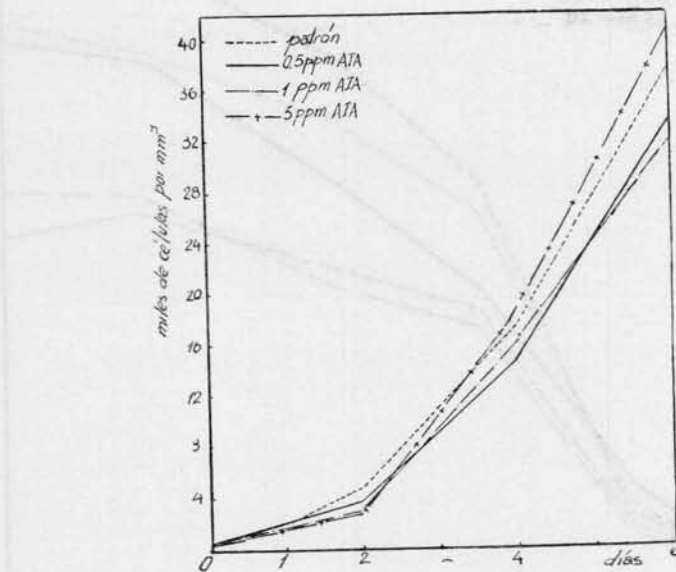


Gráfico 2. — Efectos del A1A sobre la multiplicación de *S. obliquus*

sivo. El tratamiento se mantuvo durante 10 días; a partir del 6º se notó aumento del tamaño de las células, que fue más aparente a las concentraciones de 10 y 20 ppm. Se trató de determinar dicho aumento en otros ensayos que se continuaron 13 y 16 días, respectivamente, usando concentraciones de 10, 20, 30 y 40 ppm, midiendo el largo y el ancho de 50 células y promediando los valores obtenidos. Los resultados fueron variables e inconstantes. El número de 50 mediciones, con que se obtuvieron los promedios de cada concentración, fue insuficiente; en consecuencia, el mismo se elevó a 100 en los ensayos siguientes.

Eliminado el error anterior, se comprobó que los resultados presentaban aún una variación importante. Se determinó que ella se debía al lapso de 30 minutos, entre la extracción de muestras sucesivas. Ese tiempo era suficiente para que variara el tamaño de las algas de los tubos finales, lo cual inducía a error.

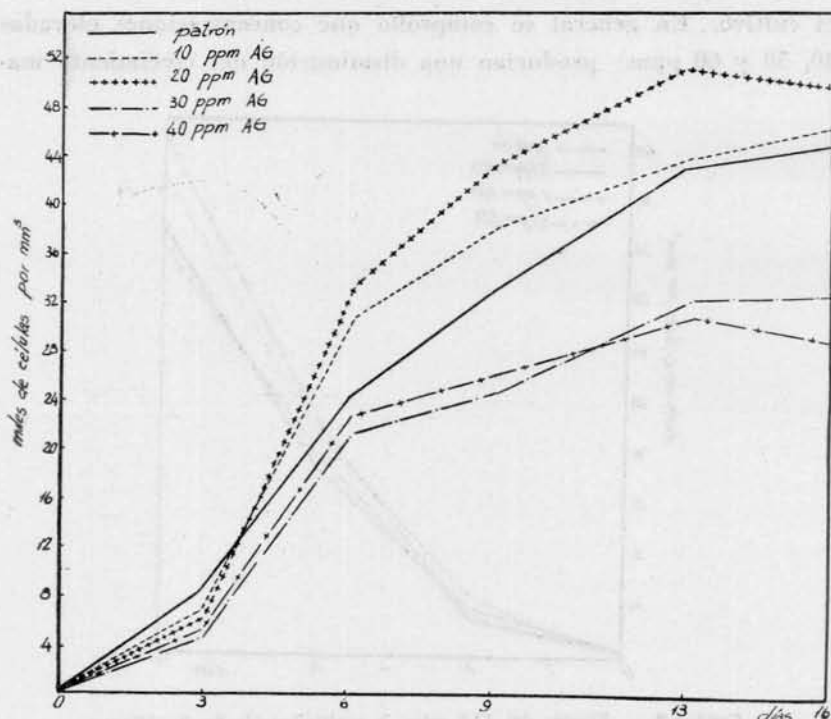
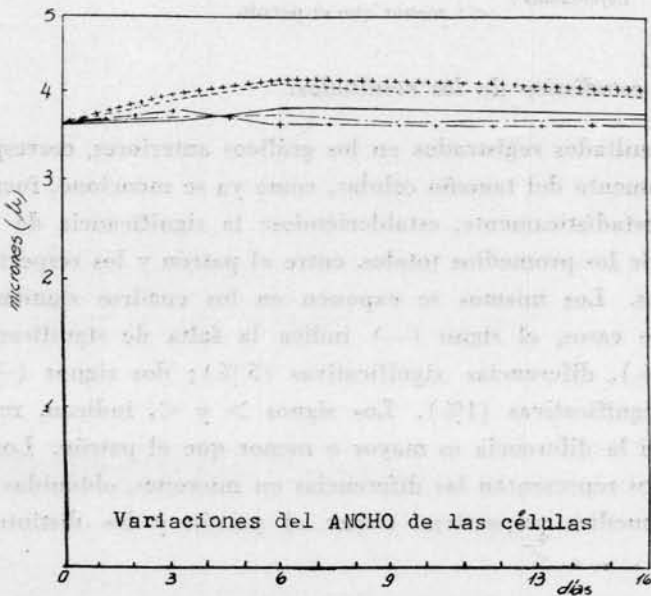
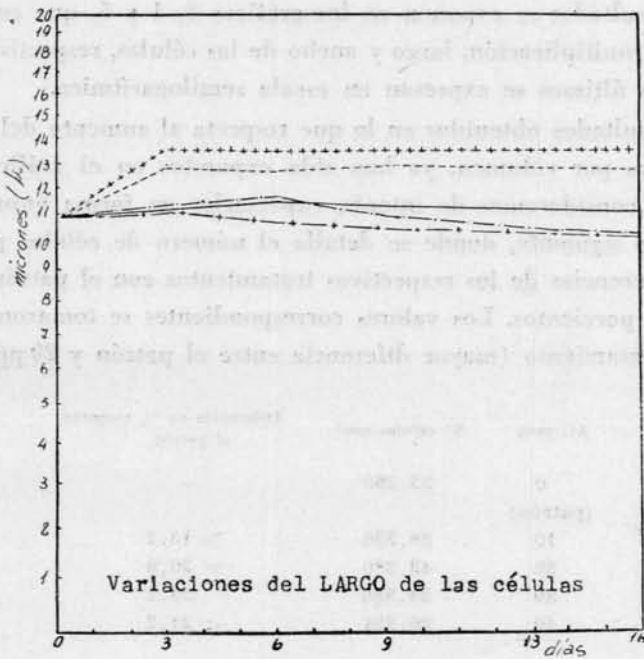


Gráfico 3. — Efectos del AG sobre la multiplicación de *S. obliquus*

Ensayo definitivo:

Siguiendo el procedimiento descrito (material y método), se efectuaron los recuentos y mediciones al 3º, 6º, 9º, 13º y 18º días a partir de la fecha de siembra.

Se realizó el análisis estadístico de los resultados obtenidos en las mediciones del tamaño celular, determinándose el error standard, la desviación de la media y la desviación de la diferencia entre las medias, estableciendo la significancia de dicha diferencia.



Gráficos 4 y 5. — Efectos del AG sobre el tamaño celular de *S. obliquus*

Referencias : ——— patrón ; 10 ppm AG ; ++++ 20 ppm AG ; — — — 30 ppm AG ;
 — + — 40 ppm AG.

Los resultados se exponen en los gráficos 3, 4 y 5, que corresponden a la multiplicación, largo y ancho de las células, respectivamente; estos dos últimos se expresan en escala semilogarítmica.

Los resultados obtenidos en lo que respecta al aumento del número de células por volumen, ya han sido expuestos en el gráfico 3; no obstante consideramos de interés, expresarlos en forma numérica en el cuadro siguiente, donde se detalla el número de células por mm^3 y las diferencias de los respectivos tratamientos con el patrón, expresadas en porcentos. Los valores correspondientes se tomaron del día 2º del tratamiento (mayor diferencia entre el patrón y 20 ppm AG).

AG ppm	Nº células/ mm^3	Diferencia en % respecto al patrón
0 (patrón)	33.280	--
10	28.336	> 15,2
20	43.280	> 30,0
30	24.880	25,2
40	26.224	< 21,2

Referencias: > : mayor que el patrón
< : menor que el patrón

Análisis estadístico de los resultados:

Los resultados registrados en los gráficos anteriores, correspondientes al aumento del tamaño celular, como ya se mencionó, fueron analizados estadísticamente, estableciéndose la significancia de las diferencias de los promedios totales, entre el patrón y los respectivos tratamientos. Los mismos se exponen en los cuadros siguientes. En todos los casos, el signo (—) indica la falta de significancia; un signo (+), diferencias significativas (5 %); dos signos (+), altamente significativas (1%). Los signos > y <, indican, respectivamente, si la diferencia es mayor o menor que el patrón. Los valores numéricos representan las diferencias en micrones, obtenidas a partir de las medias respectivas (entre el patrón y los distintos tratamientos).

SIGNIFICANCIA DE LAS DIFERENCIAS ¹

A) Largo celular:

Diferencias de los tratamientos respecto al patrón

AG ppm	Días				
	3	6	9	13	16
10	1,59 >++	1,17 >++	1,44 >++	1,62 >++	1,68 >++
20	2,30 >++	1,97 >++	2,03 >++	2,18 >++	2,55 >++
30	0,13 >-	0,10 >-	0,46 <-	0,73 <+	0,69 <+
40	0,12 <-	0,81 <++	0,96 <++	0,89 <+	0,91 <++

B) Ancho celular:

Diferencias de los tratamientos respecto al patrón

AG ppm	Días				
	3	6	9	13	16
10	0,29 >++	0,30 >++	0,29 >++	0,25 >++	0,19 >+
20	0,32 >++	0,37 >++	0,33 >++	0,31 >++	0,31 >++
30	0,06 >-	0,10 <+	0,15 <+	0,09 <-	0,03 <-
40	0,10 >+	0,18 <++	0,17 <+	0,13 <+	0,11 <+

Referencias :

- > : mayor que el patrón
- < : menor que el patrón (inhibición)
- + : significativo (5%)
- ++ : altamente significativo (1%)
- : no significativo

Los valores numéricos representan las diferencias entre las medias, expresadas en micrones.

¹ La significancia se obtuvo en cada caso, aplicando la fórmula $\frac{D}{e_D}$, donde D es el valor de la diferencia entre las medias y e_D el valor de la desviación de dicha diferencia.

En lo referente al tamaño, los valores expresados en los resultados anteriores representan el promedio de la población total, donde se toman en cuenta desde las células de reciente formación (pequeñas) hasta las que han alcanzado el tamaño mayor.

Se consideró que los valores más representativos serían aquellos que se refieren a las células ya maduras. Su promedio expresaría una medida más real del aumento provocado por el AG con respecto al patrón.

Con objeto de obtener esos valores, fue necesario determinar primero qué proporción de la población correspondía a las células maduras, y si este valor podía obtenerse con un número de mediciones que fuera compatible con las posibilidades de trabajo. Con este fin se ordenaron las medidas del largo y del ancho, respectivamente, de las 100 células de cada tratamiento, en orden decreciente. Luego se promediaron los valores de las 10 primeras, o sea las 10 mayores (10 % de la muestra). Después se promediaron los valores de las 20 primeras, o sea las 20 mayores (20 % de la muestra), y así hasta completar las 100 medidas (Tabla A, gráfico *a*; Tabla B, gráfico *b*).

Los valores corresponden al 16º y 6º días del tratamiento, respectivamente, para el largo y ancho de las células.

Los resultados revelaron, como era de prever, que cuando la comparación de los promedios se reducen al grupo de células mayores (porcentaje menor), las diferencias con el patrón aumentan en forma constante. En el cultivo patrón en lo que respecta al ancho celular, se llega a un máximo cuando el recuento correspondió al 40 % de las células medidas, luego del cual se estabiliza. Este comportamiento indica que alcanzado el ancho mayor, transcurre un tiempo antes que las células vuelvan a dividirse. En el patrón en lo referente al largo celular no se ha logrado el máximo con el recuento del 10 % de las células mayores, pero ya existe una tendencia de las células a estabilizarse; lo cual indica que luego de alcanzado el ancho máximo (40 %), las células siguen creciendo en longitud.

El estudio de los promedios, correspondientes, tanto al largo como al ancho de las células tratadas con AG, revela que el tamaño aumenta en forma progresiva, en una forma completamente contraria a la estabilización. Este comportamiento indica que no hay una detención del crecimiento previa a la división celular, sino que aquél prosigue indefinidamente hasta que ésta ocurre.

TABLA A (gráfico a)

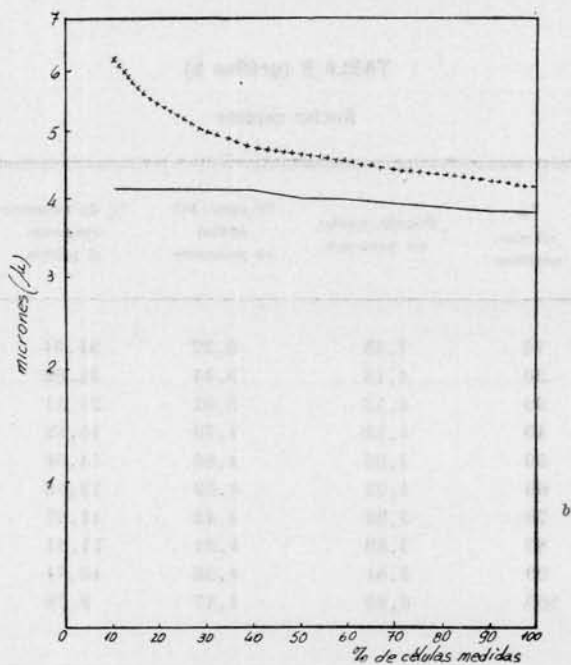
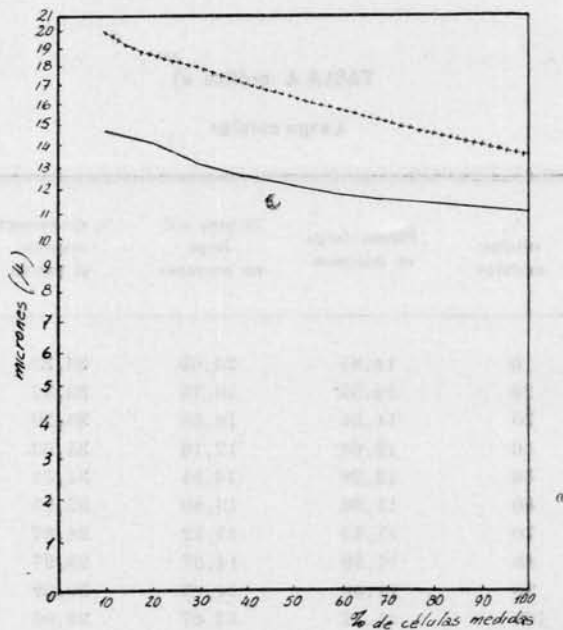
Largo celular

% células medidas	Patrón: largo en micrones	20 ppm AG largo en micrones	% de aumento respecto al patrón
10	14,81	20,05	35,37
20	14,33	18,75	30,82
30	14,34	18,08	35,50
40	12,68	17,19	35,63
50	12,28	16,54	34,71
60	11,96	15,80	32,07
70	11,73	15,12	28,87
80	11,56	14,57	26,97
90	11,38	14,12	24,09
100	11,12	13,67	22,94

TABLA B (gráfico b)

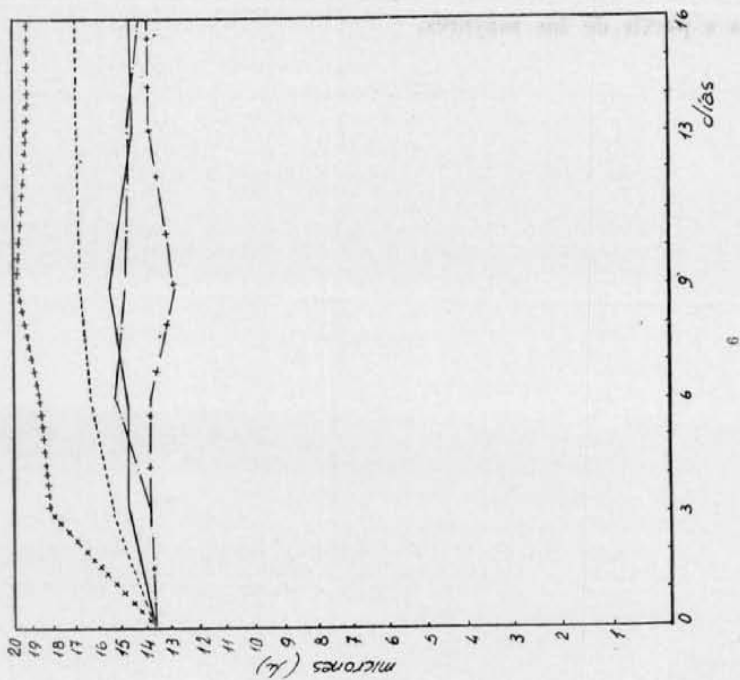
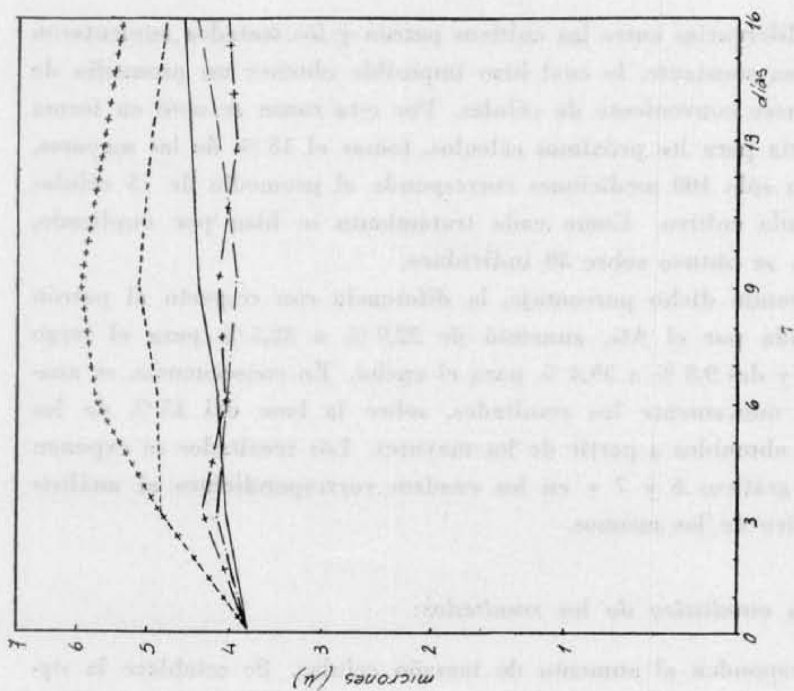
Ancho celular

% células medidas	Patrón: ancho en micrones	20 ppm AG ancho en micrones	% de aumento respecto al patrón
10	4,13	6,27	51,64
20	4,13	5,44	31,66
30	4,13	5,01	21,11
40	4,13	4,79	15,82
50	4,06	4,66	14,56
60	4,02	4,52	12,56
70	3,96	4,42	11,67
80	3,89	4,34	11,51
90	3,84	4,26	10,74
100	3,80	4,17	9,78



Gráficos a y b. — a, largo celular; b, ancho celular

Referencias : — patrón ; + + + + 20 ppm AG.



Gráficos 6 y 7. — Efectos del AG sobre el tamaño celular de *S. obliquus*. Valores correspondientes al 15.0% de las células, medidas a partir de las mayasres. 6, largo celular; 7, ancho celular.

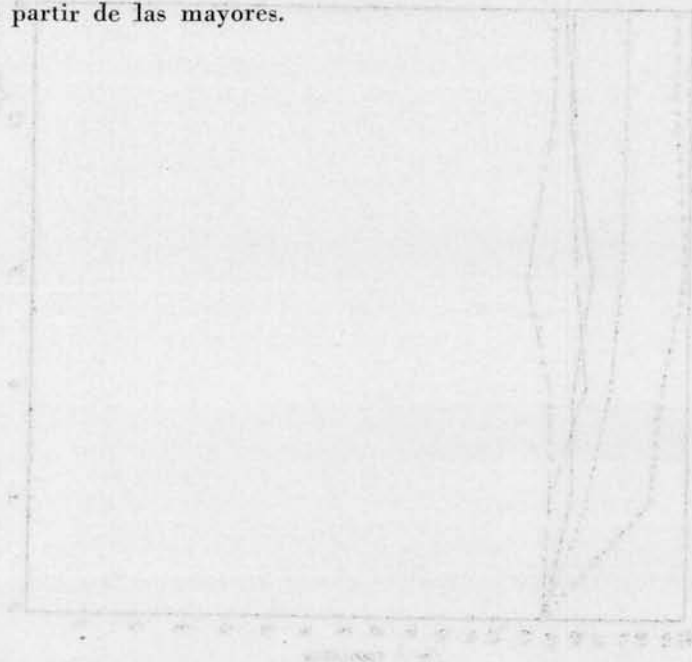
Referencias: — patrón; 10 ppm AG; +++ 20 ppm AG; —·—·— 30 ppm AG; + + + 40 ppm AG.

Las diferencias entre los cultivos patrón y los tratados aumentaron en forma constante, lo cual hizo imposible obtener un promedio de un número conveniente de células. Por esta razón se optó en forma arbitraria para los próximos cálculos, tomar el 15 % de las mayores, que con sólo 100 mediciones corresponde al promedio de 15 células para cada cultivo. Como cada tratamiento se hizo por duplicado, el 15 % se obtuvo sobre 30 individuos.

Utilizando dicho porcentaje, la diferencia con respecto al patrón provocada por el AG, aumentó de 22,9 % a 32,5 % para el largo celular y del 9,8 % a 39,4 % para el ancho. En consecuencia, se analizaron nuevamente los resultados, sobre la base del 15 % de los valores obtenidos a partir de los mayores. Los resultados se exponen en los gráficos 6 y 7 y en los cuadros correspondientes al análisis estadístico de los mismos.

Análisis estadístico de los resultados:

Corresponden al aumento de tamaño celular. Se establece la significancia de las diferencias de los promedios del 15 % de las células, medidas a partir de las mayores.



SIGNIFICANCIA DE LAS DIFERENCIAS

A) Largo celular:

Diferencias de los tratamientos respecto al patrón

AG ppm	Días				
	3	6	9	13	16
10	0,34 >-	1,54 >++	1,22 >++	2,34 >++	2,30 >++
20	3,44 >++	3,72 >++	4,36 >++	4,67 >++	4,72 >++
30	0,83 <++	0,19 >-	0,62 <+	0,16 >-	0,32 <-
40	0,83 <++	1,09 <++	2,59 <++	0,76 <+	0,62 <-

B) Ancho celular:

Diferencias de los tratamientos respecto al patrón

AG ppm	Días				
	3	6	9	13	16
10	0,81 >++	0,81 >++	0,85 >++	0,51 >++	0,25 >-
20	0,81 >+	1,64 >++	1,63 >++	1,20 >++	0,81 >+
30	0,07 >-	0,07 <-	0,44 <++	0,34 <++	0,18 <-
40	0,26 >+	0,07 <-	0,25 <+	0,53 <++	0,53 <++

Referencias :

- > : mayor que el patrón
- < : menor que el patrón (inhibición)
- + : significativo (5%)
- ++ : altamente significativo
- : no significativo

Los valores numéricos representan las diferencias entre las medias, expresadas en micrones

Efectos remanentes del AG:

Con objeto de determinar si las células descendientes de aquéllas que habían sido sometidas a los tratamientos con AG, presentaban algún efecto remanente del mismo, se efectuó el ensayo que se describe a continuación. Las algas correspondientes a los distintos tratamientos (patrón, 10, 20, 30 y 40 ppm de AG) se lavaron repetidas

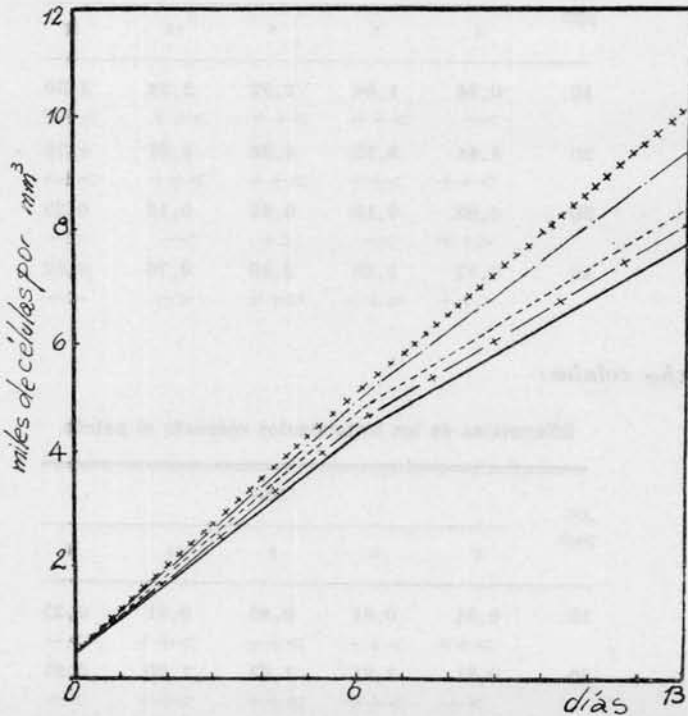


Gráfico 8. — Población. Efectos remanentes del AG sobre *S. obliquus*

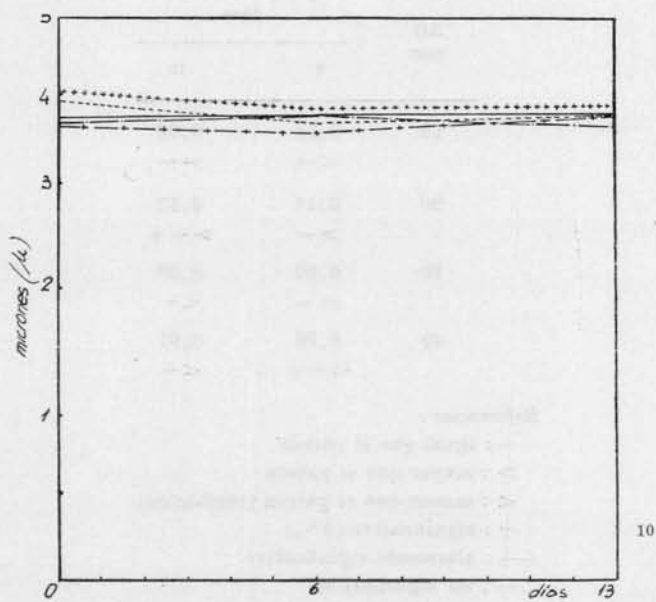
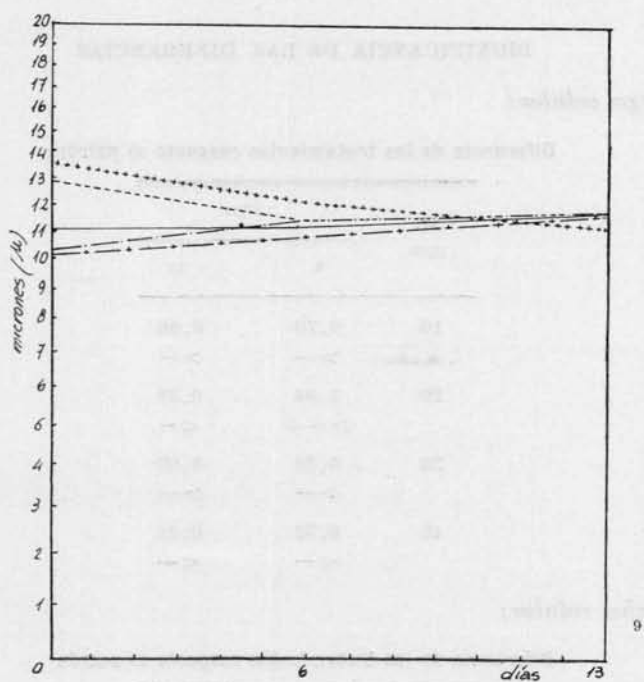
Referencias : — patrón ; - - - - 10 ppm AG ; + + + + 20 ppm AG ; — — — 30 ppm AG ; — + — 40 ppm AG.

veces con agua destilada y fueron posteriormente sembradas en nuevo medio sin AG, bajo condiciones de luz, temperatura y agitación iguales a las descritas.

Los resultados pueden observarse en los gráficos 8, 9 y 10 y en los cuadros correspondientes al análisis estadístico de los mismos.

Análisis estadístico de los resultados:

Corresponden a las variaciones del tamaño celular, provenientes de los promedios totales del efecto remanente del AG.



Gráficos 9 y 10. — Efectos remanentes del AG sobre *S. obliquus*
9, largo celular; 10, ancho celular

Referencias: — patrón; - - - - 10 ppm AG; + + + + 20 ppm AG; — — — 30 ppm AG
— + — 40 ppm AG.

SIGNIFICANCIA DE LAS DIFERENCIAS

A) Largo celular:

Diferencia de los tratamientos respecto al patrón

AG ppm	Días	
	6	13
10	0,20 >—	0,06 >—
20	1,04 >+++	0,38 <—
30	0,23 >—	0,07 >—
40	0,32 <—	0,08 <—

B) Ancho celular:

Diferencia de los tratamientos respecto al patrón

AG ppm	Días	
	6	13
10	0,04 <—	0,00 =—
20	0,11 >—	0,17 >+++
30	0,00 =—	0,09 <—
40	0,16 <+++	0,01 <—

Referencias :

- = : igual que el patrón
- > : mayor que el patrón
- < : menor que el patrón (inhibición)
- + : significativo (5%)
- ++ : altamente significativo
- : no significativo

Los valores numéricos representan las diferencias entre las medias, expresadas en micrones.

Discusión de los resultados:

En las condiciones expuestas, el AG estimula el crecimiento de *Scenedesmus obliquus* a las concentraciones de 10 y 20 ppm. El estímulo se traduce en el número de células (mayor población) y en el volumen celular (aumento de tamaño).

La mayor diferencia en el número de individuos entre el patrón y 20 ppm de AG, se manifestó al 9º día del ensayo y alcanzó al 30 % de aumento.

Los resultados obtenidos en las variaciones del tamaño celular, entre el patrón y 20 ppm de AG, si bien de acuerdo al tratamiento estadístico acusaron valores altamente significativos, se consideró que los mismos no expresaban una medida real del aumento de tamaño provocado por el AG, ya que la muestra incluía individuos en todos los estados de crecimiento. Por tal motivo se obtuvieron los promedios correspondientes al 15 % de las células a partir de las mayores, de acuerdo a un ensayo especial realizado al efecto. En esta forma se obtuvieron las máximas diferencias parciales entre el patrón y 20 ppm de AG, registradas al 16º día para el largo celular con 32,5 % de aumento y 39,7 % de aumento para el ancho el día 6º.

Concentraciones mayores de 20 ppm de AG produjeron inhibición. Dicha inhibición se incrementó al aumentarse la concentración. Las células provenientes de los distintos tratamientos, lavadas varias veces con agua destilada y cultivadas nuevamente en soluciones sin AG, mostraron aún efecto estimulante que tendió a desaparecer, lo que sugiere su persistencia en el interior del alga.

A pesar que los cultivos se realizaron en iguales condiciones, se pudo observar que la multiplicación varió en los distintos ensayos, tanto en aquellos correspondientes al patrón como los tratados con AG. Hubo casos en que se produjo una disminución del 75 % en el crecimiento, comparado con los mayores. Este comportamiento se interpretó como una producción periódica de sustancias inhibitorias, lo cual será tema de estudio en próximos ensayos.

Otro aspecto que resta por ensayar, ya citado en la revisión bibliográfica, es la interacción entre el AIA y AG. Puede verse que los distintos trabajos consultados sobre el tema, se basan exclusivamente en experiencias realizadas con plantas superiores. En nuestro estudio, en las condiciones experimentales referidas, hemos determinado que el AIA no estimula el crecimiento de *S. obliquus*, sino por el contrario

lo inhibe y resulta inocuo a bajas concentraciones. El AG, en cambio, estimula el crecimiento, con un óptimo en la concentración de 20 ppm. De estos resultados se desprende el interés de encarar el estudio de interacción de ambas sustancias de acción hormonal sobre la especie citada, ya que se trata de un organismo unicelular, con el cual podrían apreciarse los efectos en forma precisa, ya sea en la multiplicación, alargamiento celular o ambos.

El presente trabajo de tesis ha sido realizado en el Departamento de Botánica del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia".

El autor agradece a las autoridades de dicho Instituto, las facilidades brindadas durante el trabajo. Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, por haberle otorgado la beca que hizo posible su realización, como así también al profesor Ing. Agr. don Enrique M. Sivori, quien asumió la dirección del mismo.

Sumario — Se estudió el efecto del AIA sobre el crecimiento de *Scenedesmus obliquus*, a partir de cultivos unialgales mantenidos en condiciones controladas de luz, temperatura y agitación. Altas concentraciones (10-90 ppm) inhibieron la multiplicación del alga, mientras que bajas concentraciones (0,5-5 ppm) no produjeron estímulo ni inhibición.

En las mismas condiciones de cultivo se ensayó también el AG. Con las concentraciones de 30 y 40 ppm, el crecimiento fue inhibido; con 10 y 20 ppm se produjo una aceleración de la multiplicación y un aumento del tamaño de las células. Los valores máximos se obtuvieron con 20 ppm acusando diferencias altamente significativas con el testigo: expresado en porcentaje, el aumento fue del 30 % para la población y del 32,5 % y 39,7 % para el largo y ancho de las células, respectivamente.

Algas provenientes de cultivos tratados con AG evidenciaron efectos remanentes en la multiplicación y tamaño, que luego tendieron a desaparecer. Este comportamiento se atribuye a la presencia de AG residual.

Summary. — The effect of Indoleacetic Acid on the growth of *Scenedesmus obliquus*, was study starting from unialgal cultures, mantained under controlled conditions of light, temperature and agitation. High concentrations (10-90 ppm), inhibited the multiplication of the algae, while low concentrations (0.5-5 ppm) did not produce stimulus or inhibition.

Under the same conditions of culture it was also tried with Gibberellic Acid. With concentrations of 30 and 40 ppm, growth was inhibited; with 10 and 20 ppm the result was an encrease of multiplication and in the size of cells.

The highest values were obtained with 20 ppm, giving quite significant differences with test tubes. Meaning in percentage, the increase was of 30% for the population and of 32.5% and 39.7% for the length and width of the cells respectively.

Algae from the cultures treated with Gibberellic Acid showed remanent effects in the multiplication and size, that tended to disappear after. This behaviour is attributed to the presence of residual Gibberellic Acid.

BIBLIOGRAFIA

- ACCORINTI, J. 1960. *Cultivo unialgal y masivo de «Scenedesmus obliquus» T. Ktz. Técnicas de obtención.* Comun. Museo Arg. Cienc. Nat. Bs. As., Cienc. Botánicas, 1, n° 9 : 21-29.
- ARNON, D. I. 1938. *Microelements in culture solution experiments with higher plants.* *Am. Jour. Bot.* 25, n° 5 : 322.
- BRANNON, M. A. 1937. *Algae and growth substances.* *Science* 86 : 353-354.
- and BARSTSCH, A. F. 1939. *Influence of growth substances on growth and cell division in green algae.* *Am. Jour. Bot.* 26, n° 5 : 271-279.
- BRIAN, P. W. and HEMMING, H. G. 1957. *A relation between the effects of gibberellic acid and indolyacetic acid on plant cell extension.* *Nature* 179 : 417.
- 1958. *Complementary action of gibberellic acid and auxins in pea internodes extension.* *Ann. Bot.N. S.* 22 : 1-17.
- BRIAN, P. W. 1959. *Effects of gibberellins on plant growth and development.* *Biol. Rev.* 34 : 37-84.
- GALSTON, A. W. and WARBURG, H. 1959. *An analysis of auxin-gibberellin interaction in pea stem.* *Plant Phys.* 34 : 16-21.
- KATO, Y. 1955. *Responses of Plant Cells to gibberellin.* *Bot. Gaz.* 117 : 16.
- 1958. *Studies on the physiological effect of gibberellin II. On the interaction of gibberellin with auxins and growth inhibitors.* *Phys. Plant.* 11 : 10.
- LEONIAN, L. H. and LILLY, V. G. 1937. *Is heteroauxin a growth promoting substance?* *Am. Jour. Bot.* 24, n° 3 : 135-139.
- LILLY, V. G. and LEONIAN, L. H. 1941. *Some factors affecting the dry weight of «Chlorella vulgaris».* *Am. Jour. Bot.*, 28, n° 7 : 569-572.
- MEYER, B. S. and ANDERSON, D. B. 1941. *Laboratory Plant Physiology*, N. Y. 633 págs.
- VAN OVERBEEK, J. 1959. *Auxins.* *Bot. Rev.* 25, n° 2 : 269-350.
- et al. 1957. *Simultaneous analysis of auxin and gibberellin.* *Plant Phys.*, 32 (suppl.) xxxii.
- PILET, P. E. 1957. *Actions des gibberellines sur l'activité auxines-oxydase de tissus cultivés in vitro.* *Compt. Rend. Hebd. des Scien. de l'Acad. des Scien.* 245 : 1327-1328.
- PRATT, R. 1938. *Influence of auxins on the growth of «Chlorella vulgaris».* *Am. Jour. Bot.* 25, n° 7 : 498-501.
- PROVASOLI, L. 1958. *Effect of plant hormones on «Ulva».* *Biol. Bull.* 114, n° 3 : 375-384.

- SCHROEDER, C. A. and SPECTOR, C. 1957. *Effect of gibberellic acid and indoleacetic acid on growth of excised fruit tissue. Science* 126:701.
- STOWE, B. B. and YAMAKI, T. 1959. *Gibberellins: Stimulants of plant growth. Science* 129: 807-816.
- WAREING, P. F. 1958. *Interaction between indole acetic acid and gibberellic acid in cambial activity. Nature* 181: 1744.
- WHALEY, W. G. and KEPHART, J. 1957. *The effects of indoleacetic and gibberellic acid on growth of isolated root tip segments of inbred maize. Plant Phys.* 32 (suppl.) xxxiii.
- YIN, H. C. 1937. *Effect of auxin on «Chlorella vulgaris». Proc. Nat. Acad. Sci.* 23: 174-176.

La Plata, 27 de diciembre de 1961.

REVISTA DEL MUSEO DE LA PLATA (NUEVA SERIE), tomo IX : Botánica, 20 de octubre de 1962
