

ACTIVIDAD INDOLACETICO OXIDASA EN PLANTULAS DE
ARVEJA ENANA (*Pisum sativum* L. cv. SAN CIPRIANO).
PRETRATADAS CON ACIDO GIBERELICO, SOMETIDAS
A LUZ Y OSCURIDAD.

GUSTAVO A. SAYAVEDRA ¹

SUMMARY

Activity indoleacetic acid oxidase in pea seedlings (*Pisum sativum* L. cv. San Cipriano) treated previously with gibberellic acid at light and in darkness.

The purpose of this work was to determine the incidence of gibberellic acid (G. A.) and light on the activity of the indoleacetic acid oxidase from extracts of pea's epicotilis (*Pisum sativum* L. cv. San Cipriano). The greatest enzymatic activity was observed in tests carried out at light, and among these, in those with G. A.-treatment. In tests carried out in darkness it was also observed that the greatest activity was in those with the G. A.-treatment.

INTRODUCCION

El trabajo tuvo por objeto tratar de esclarecer las relaciones entre el ácido giberélico (A.G.) y el ácido indol-3-acético (A.I.A.) como factores de crecimiento.

La mayor parte de los autores están de acuerdo en que existe un verdadero sinergismo entre las giberelinas y el A.I.A. (1), (2), (3). Es admitido que el A.G. provoca un aumento, al menos momentáneo, del tenor de auxinas en los tejidos tratados (1), (4). GASPAR y col. (5) tratando raíz de lenteja (*Lens culinaris Medik*) por 48 horas con A.G., encontraron un significativo aumento de la actividad de la indolacético oxidasa con respecto a la raíz no tratada. Ellos postularon que el primer efecto del A.G. dado a tejidos, es una inhibición de la enzima; consecuentemente el nivel de A.I.A. en la célula incrementa.

¹ Cátedra de Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias Agrarias; Universidad Nacional de Cuyo.

Los tejidos luego reaccionan ante un inusitado aumento del A.I.A., provocando la formación inductiva de la enzima.

BOUILLENNE-WALRAND y col. (6), trabajando con hojas verdes de maíz (*Zea mays L.*), comprobaron que el A.G. provoca un aumento en el contenido de inhibidores fenólicos de la indolacético oxidasa, lo que determinaría, según los autores, la inactivación de la enzima, y por lo tanto, un aumento en el contenido de auxinas.

Al mismo tiempo se trató de averiguar de que manera la luz interviene sobre la actividad de la indolacético oxidasa, en las condiciones de trabajo.

La mayoría de los autores (7), (8), admiten que la luz activa a la indolacético oxidasa en experimentos "in vitro". GORDON (9) encontró que plantas crecidas a luz producen más auxinas que las etioladas, lo que puede determinar inducción enzimática. Esto fue comprobado por Stutz (10) trabajando con plantas de lupino (*Lupinus albus L.*), al encontrar mayor actividad de indolacético oxidasa en plantas verdes que en las etioladas.

MATERIAL Y METODOS

Extracción de la enzima

Los epicotilos se seccionaron a una distancia de 8-10 cm. a partir del ápice. El material previamente congelado, se molió en mortero de porcelana enfriado, con el agregado de arena de cuarzo lavada. Luego de filtrar el macerado a través de etamina, el líquido se centrifugó a 20.000 g. durante 15 minutos a 0°C.

Medición de la actividad enzimática

La actividad enzimática se determinó por la técnica manométrica de WAGENKNECHT y BURRIS (11). En la rama lateral se colocó 0,2 ml. del extracto enzimático. En el cuerpo central se colocó 0,4 ml. de una solución 0,06 M de A.I.A.; 0,1 ml. de Cl_2Mn 30 mM; 0,1 ml. de beta naftol 30 mM y 1 ml. de buffer citrato PO_4HNa_2 0,1 M pH 5. En la copita central se colocó a 0,1 ml. de OHK al 20% absorbido en papel de filtro plegado.

EXPERIMENTOS Y RESULTADOS

A los fines del presente trabajo se tomaron cuatro lotes de arveja enana (*Pisum sativum L.* cv. San Cipriano); a dos se los remojó durante seis horas con agua, y a los otros dos se los remojó durante seis horas con una solución de ácido giberélico 50 p.p.m.

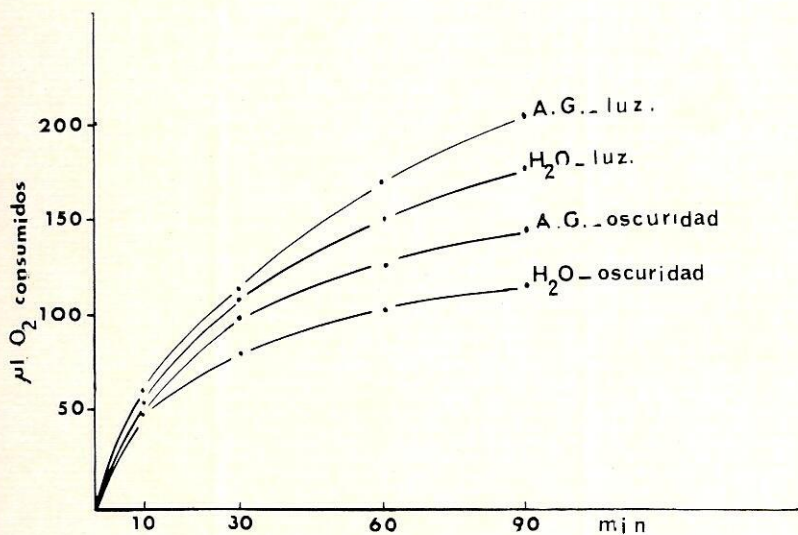
Uno de los lotes tratados con agua creció a oscuridad y el otro a luz. De igual manera se procedió con los tratados con A.G. Se dejaron siete días en las condiciones señaladas y luego se cortaron los epicotilos,

se congelaron y se extrajo el extracto. Con cada una de las variantes se realizó una determinación manométrica *Warburg*, en las condiciones ya señaladas. Además se determinó el peso seco de los distintos extractos.

Como se aprecia en el gráfico N° 1, la mayor actividad enzimática se observa en los tratamientos con luz, y entre éstos, en el que tiene A.G. En los tratamientos a oscuridad ocurre lo mismo.

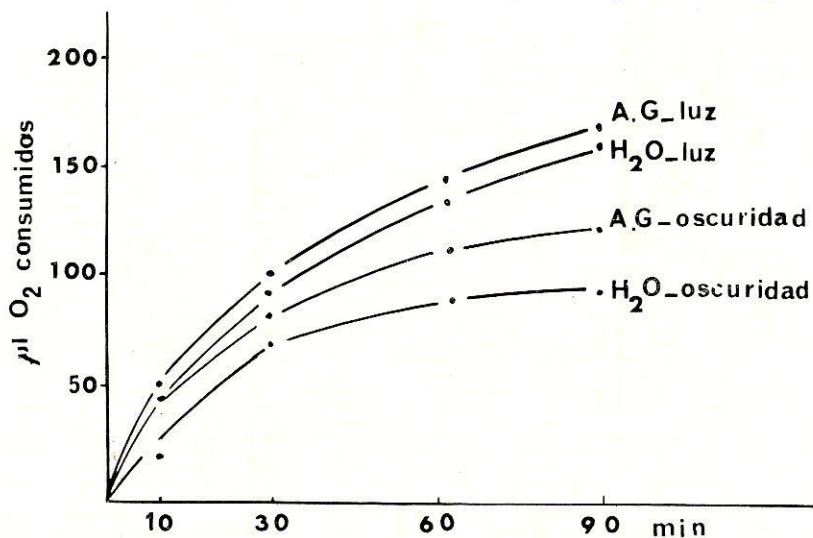
En otro experimento posterior, habiendo llevado todos los extractos a igualdad de peso seco, se mantiene lo manifestado en el caso anterior, es decir, se encuentra mayor actividad enzimática en los tratamientos a luz que en los a oscuridad y en los tratados con A.G. que en los testigos. (Gráfico N° 2).

El estado vegetativo de las plántulas es distinto, según se hayan tratado o no con A.G. Por tal motivo, se repitió el experimento cortando los epicótilos con el mismo estado de crecimiento. A los siete días se seccionaron los tratados con A.G. a oscuridad. Los tratados con A.G. a luz, y con agua a luz y oscuridad, fueron seccionados 48 horas después. Las curvas de actividad enzimática son similares a los casos anteriores. (Gráfico N° 3).



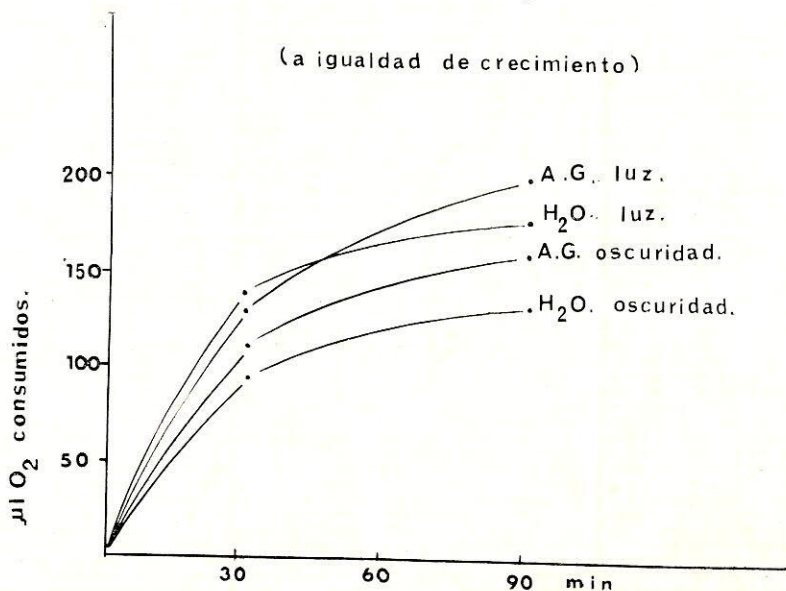
Graf. N° 1

Graf. N° 1 — Actividad de indolacético oxidasa, expresada en ml de O₂ consumidos, de extractos enzimáticos de arvejas crecidas a luz y oscuridad y pretratadas o no con ácido gibberellico 50 p.p.m.



Gráf. N° 2

Gráf. N° 2 — Actividad de indolacético oxidasa, expresada en ml de O₂ consumidos, de extractos enzimáticos de arvejas crecidas a luz y oscuridad y pretratadas o no con ácido gibberellico 50 p.p.m. Los extractos fueron llevados todos al mismo peso seco.



Gráf. N° 3.

Gráf. N° 3 — Actividad de indolacético oxidasa, expresada en ml de O₂ consumidos, de extractos enzimáticos de arvejas crecidas a luz y oscuridad y pretratadas o no con ácido gibberellico 50 p.p.m. Los extractos provienen de epicotilos cortados a igualdad de crecimiento.

DISCUSION

Con los resultados obtenidos comprobamos que los epicotilos provenientes de semillas tratadas con A.G. presentan mayor actividad enzimática que los no tratados. Este hecho quizás pueda ser explicado por la inducción enzimática provocada por el inicial aumento del A.I.A., mencionado por GASPAS (5). Los ensayos realizados a luz presentaron una mayor actividad enzimática que los respectivos a oscuridad. Esto puede ser atribuido a la remoción de inhibidores de la enzima por la luz, tal como lo postula HARE (12). Este autor cita el hecho que la luz es inefectiva después que los inhibidores han sido removidos por diálisis o por precipitación por acetona. También puede ser atribuido, como lo señalaron GORDON (9) y STUTZ (10), a la inducción enzimática provocada por un inicial incremento del A.I.A.

RESUMEN

El presente trabajo se propuso aclarar en qué medida influyen el ácido giberélico (A.G.) y la luz sobre la actividad de la indolacético oxidasa de extractos de epicotilos de arveja (*Pisum sativum* L. cv. San Cipriano). La mayor actividad enzimática se observó en los ensayos efectuados a luz, y entre éstos, en los tratamientos con A.G. En los ensayos sometidos a la oscuridad hubo también mayor actividad en el caso de los tratamientos con A.G.

AGRADECIMIENTO

El autor agradece al Prof. Ing. Agr. RICARDO TIZIO por sus valiosas sugerencias relativas al tema y desarrollo del presente trabajo.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — NITSCH, J. P. et NITSCH, C. 1959. Modification du métabolisme des auxines par l'acide gibbérellique.
Bull. Soc. Fr. Phys. Vég., 5:20.
- 2 — BRIAN, P. W. 1959, Interactions between gibberellins and auxins.
Congres international de Botanique, Montreal, p. 47.
- 3 — MAEDA, E. 1960, Interaction of gibberellin and auxins in lamina joints of excised rice leaves.
Physiol. Plant., 13:214.
- 4 — BOUILLENNE-WALRAND, M. 1958, Les gibberellines, facteurs auxiniques chez les plantes supérieures.
Bull. Soc. Roy. Sc. Liege, 9-10:227.

- 5 — GASPARD TH; XHAUFFAIRE, A.; BOUILLENNE-WALRAND, M. 1965, Acide Gibberéllique et activité auxines-oxidasiqúe.
Bull. Soc. Roy. Sc. Liege, 34 (3-4): 149-175.
- 6 — BOUILLENNE-WALRAND, M.; LEYH, C.; BASTIN, M. et GASPARD, TH.; 1967, Extraction, dosage, analyse chromatographique et caractérisation des effecteurs auxines - oxydasiqúes des feuilles de Zea Mays (variété naine) traité par l'acide gibbéréllique. Bull. Soc. Roy. de Bot. de Belgique, tomt 100:153.
- 7 — GALSTON, A. W. and BAKER, R. S. 1949, Studies on the physiology of light action. II. The photodynamic action of riboflavin.
Amer. Jour. Bot., 36:773-780.
- 8 — GALSTON, A. W. and BAKER, R. S. 1951, Studies on the physiology of light action. III. Light activation of a flavoprotein enzyme by reversal of a naturally occurring inhibition.
Amer. Jour. Bot., 38:190-195.
- 9 — GORDON, S. A., 1954, Occurrence, formation, and inactivation of auxins.
Ann. Rev. Plant. Physiol., 5:341-378.
- 10 — STUTZ, R. E., 1957, The indole-3-acetic acid oxidase of *Lupinus albus* L.
Plant. Physiol. 33:207-212.
- 11 — WAGENKNECHT, A. C. and R. H. BURRIS, 1950, Indolacetic acid inactivatin enzymes from bean roots and pea seedlings.
Arch. Bioch., 25:30-53.
- 12 — HARE, R. C., 1963, Indolacetic acid oxidase.
The Botanical Review, 30 (1): 129-165.