

REVISION

Contribución de la floración *in vitro* al conocimiento del desarrollo reproductivo en plantas superiores

R. Tizio

RESUMEN

El estudio de la floración *in vitro* tiende a precisar ciertos mecanismos involucrados en la Fisiología del Desarrollo Reproductivo, en particular los relativos a vernalización y fotoperiodismo. No obstante, debe tenerse en cuenta que la metodología utilizada *in vitro* implica, por escisión de órganos o sus partes previa al cultivo, la ruptura de fenómenos de correlación a nivel de planta *in vivo*, que pueden influir en la manifestación cuali y cuantitativa de la floración. El análisis del comportamiento *in vitro* de plantas a día corto (PDC) y largo (PDL), con o sin requerimientos de vernalización, y el de algunas plantas indiferentes (PI) permiten arribar a las siguientes conclusiones generales: a) Las exigencias de vernalización y fotoperiodismo son idénticas a las requeridas por la planta *in vivo*; b) En las mismas categorías, especies con aparente preexistencia de potencial de floración a nivel de ápices caulinares; inhibición por presencia de tejidos u órganos acompañantes; posibilidad de floración bajo períodos no inductivos *in vitro*; c) Capacidad de yemas neoformadas en la captación del estímulo de floración; d) Frecuencia de la reversión o pérdida de la inducción floral *in vitro*; e) Inhibición de la floración *in vitro* por acción auxínica; f) Rol esencial de los azúcares *in vitro*; g) Probables diferencias de los mecanismos de vernalización *in vitro* e *in vivo*; h) Posibilidades de mejoramiento genético continuo por floración y fructificación *in vitro*.

Palabras clave: Plantas de día largo (PDL); de día corto (PDC); plantas indiferentes (PI); vernalización; fotoperiodismo; inducción floral.

R. Tizio, 1992. *In vitro* flowering. A contribution to the knowledge of reproductive development in higher plants. Agriscientia IX N° 1 : 41-48.

ABSTRACT

In vitro flowering studies can contribute to the understanding of some of the mechanisms involved in reproductive development, in particular those related to vernalization and photoperiodism. However, on account of the excision of plant parts, *in vitro* studies imply the rupture of correlation phenomena, which can influence the expression of flowering.

The following general conclusions can be drawn from the analysis of the *in vitro* behavior of short and long day plants, either with or without vernalization requirements, and of some photoperiodically indifferent plants: a) photoperiod and vernalization requirements of explants are identical to those of plants *in vivo*, b) in some cases, flowering *in vitro* can be achieved under non-inductive photoperiods, c) buds developed *in vitro* are capable of sensing the floral stimuli, d) there is frequent loss of floral induction *in vitro*, e) auxins inhibit flowering *in vitro*, f) sugars play an essential role in *in vitro* flowering, g) probable differences on vernalization mechanisms *in vitro* and *in vivo* conditions; h) possibilities of continuous genetic improvement from *in vitro* flowering and fruiting.

Ricardo M. Tizio. Cátedra de Fisiología Vegetal. Fac. de Ccias. Agrarias. Univ. Nac. de Cuyo. (5505) Chacras de Coria, Mendoza. R.A.

La mayoría de los trabajos relacionados con el estudio de la floración *in vitro* fueron desarrollados con el objeto de precisar algunos aspectos de la Fisiología del Desarrollo Reproductivo, en particular los relativos a los procesos de vernalización y requerimientos fotoperiódicos sobre explantos de diverso origen (ápices caulinares; secciones de tallos con o sin yemas axilares; secciones de cotiledones; de hojas, etc.) de plantas superiores.

Escasos intentos se han realizado a fin de lograr fructificación y desarrollo seminal *in vitro*, en particular en especies y cultivares normalmente propagados por vía agámica. Ello con el objeto de explorar la posibilidad de adquirir nuevos caracteres genéticos que por vía agámica muy raramente se logran.

Es necesario tener en cuenta y acentuar énfasis en el sentido que el estudio de la fisiología de la floración *in vitro* implica la ruptura de una serie de fenómenos de correlación—por efecto de escisión de órganos o sus partes previa al cultivo—que en la planta entera pueden tener importancia gravitante en la manifestación cuali y cuantitativa del fenómeno.

No obstante ello, la mayoría de los autores considera que los estudios *in vitro* pueden contribuir a una mejor comprensión de los requerimientos de vernalización y fotoperiódicos y sus mutuas interacciones, que muchas especies experimentan en pos de lograr un desarrollo reproductivo normal de la especie.

La exposición que sigue abarcará el análisis del comportamiento *in vitro* de plantas de día corto (PDC) y largo (PDL), con o sin requerimientos cuali o cuantitativos de vernalización, y de algunas plantas indiferentes (PI).

Por último, en algunos casos se analizarán *in vitro* factores que impiden o interrumpen floración normal a nivel de la planta *in vivo*, anulando la posibilidad de obtener descendencia por vía sexual. Asimismo, se darán algunos ejemplos de floración y fructificación *in vitro* de especies leñosas.

El presente análisis de la fisiología de la floración *in vitro* no pretende ser exhaustivo; sólo se analizarán casos puntuales que pueden contribuir a una mejor comprensión de los problemas planteados.

A — PDC cualitativas

- *Perilla frutescens* (Raghavan y Jacobs, 1961; Raghavan, 1961; Jacobs et al, 1965).

P. frutescens es una especie de exigencia cualitativa de día corto (DC) para florecer. La incidencia de 17 ciclos fotoperiódicos inducen floración, aunque "a posteriori" la planta se exponga a días largos (posefecto fotoperiódico).

Yemas apicales acompañadas de dos pares de hojas no desplegadas manifiestan *in vitro* la misma exigencia fotoperiódica requerida por la planta *in vivo*. No obstante, yemas desprovistas de hojas y colocadas bajo fotoperíodos largos, generan plántulas que llegan a florecer bajo esas condiciones. La presencia de sólo un primordio foliar conduce a la formación de "floroides" (florets), caracterizados por estructuras sólo conformadas por rudimentos de cáliz y corola.

El comportamiento descrito supone considerar al ápice como munido de capacidad potencial de floración, cuya manifestación sería inhibida bajo días largos (DL) por algún factor o factores suministrados por las hojas bajo aquella condición.

Por otra parte, los hechos expuestos condujeron a Jacobs y col. (1965) a cuestionar el carácter general del concepto de "florigen" propuesto por Lang (1952), basado en la síntesis de un complejo de naturaleza presuntamente hormonal de la floración sintetizado por las hojas bajo condiciones inductivas, el que luego es transportado hacia el ápice caulinar determinando el cambio de meristema vegetativo a reproductivo.

En una serie de experiencias con la misma especie, Raghavan (1961) demostró la acción inhibidora del ácido indol-3-acético (AIA) sobre la floración de ápices cultivados *in vitro* bajo condiciones de DC (8 hs). Asimismo, demostró ineficacia de la acción auxínica una vez completada la inducción fotoperiódica, aún bajo DL (16hs) y altas concentraciones del regulador de crecimiento. Sin embargo, a bajas concentraciones de AIA (10^{-7} y 10^{-8} M) constató, bajo condiciones inductivas de DC (10 hs), una transición gradual hacia estructuras florales del tipo de "conos" estériles constituidos por flósculos con cáliz bien desarrollado y lóbulos corolinos, desprovistos de tejidos u órganos esporígenos.

El mismo comportamiento anterior bajo fotoperíodos largos (16 hs) se observó en ápices acompañados por sólo un par de hojas no desplegadas, mientras que los acompañados por dos o más pares permanecieron vegetativos bajo la misma condición fotoperiódica.

El comportamiento descrito induce a pensar en un efecto inhibitor de tipo cuantitativo en relación a la conformación de ciclos florales auxi-

liares (cáliz y corola), y de orden cualitativo para los sexuales (androceo y gineceo), bajo condiciones de DL.

Los hechos apuntados plantean el interrogante de si la formación de los ciclos florales auxiliares se encuentran, por lo menos en esta especie, bajo control de la inducción fotoperiódica propiamente dicha, o si responden a un mecanismo acompañante pero fisiológicamente diferente.

Casos semejantes se observan en otras especies. Secciones de tallos de *Chrysanthemum* (PDC), cuyas yemas fueron previamente vernalizadas generan *in vitro* y bajo condiciones de DL, inflorescencias en capítulo, cuyos receptáculos aparecen "desnudos", es decir, desprovistos de flores (Schwabe, 1950).

El presunto efecto inhibitor de las hojas también se manifiesta en otras especies de DC, como *Chenopodium* (De Fossard, 1966) y ciertos cultivares de frutilla de DC (Thompson y Guttridge, 1960).

En *Perilla nankinensis* Chailajkhian y Butenko (1959 a y b) demostraron que la adición de adenina o citocininas en el medio de cultivo posibilitaron la floración bajo condiciones no inductivas de DL, siempre y cuando el medio contuviera concentraciones relativamente altas de azúcares. El rol de estos compuestos resultó esencial cuando *P. nankinensis* se cultivó a oscuridad continua. Es probable que en este caso los azúcares hayan reemplazado el período de alta intensidad lumínica (AIL) esencial para la posterior inducción de PDC. En ciertos casos y bajo condiciones de oscuridad continua (OC), aquel período puede ser reemplazado por azúcares asperjados a la hoja de plantas *in vivo* (Lona, 1948. cit. por Lang (1952).

Otras plantas de DC cualitativas se comportan *in vitro* en forma semejante que las plantas *in vivo*. Apices de *Chrysanthemum* y *Pharbitis* acompañados de primordios foliares cultivados *in vitro* en el medio de Heller desarrollaron primordios florales entre la 3ª y 4ª semana de cultivo bajo condiciones inductivas (10 hs.), con diferenciación de flores normales 15 días después. En ambos casos, las yemas apicales se mantuvieron vegetativas bajo fotoperíodos largos (Harada, 1967).

B – Plantas de DC-DL.

– *Cestrum dlurnum* (Caplin y Griesel, 1967).

Se trata de una planta de exigencia DC-DL para florecer, que no necesita pretratamiento de frío como exige *Chrysanthemum* (Schwabe, 1950).

Explantos nodales compuestos por el ápice, primera hoja y yema axilar florecen bajo DC con

presencia foliar. La inducción tiene aún lugar con sólo 1/16 de área foliar, hecho que demuestra que la percepción del estímulo de floración ocurre en la hoja. Esta presunción se basa en el hecho que su ausencia determina que las yemas se mantengan vegetativas bajo aquella condición fotoperiódica. Además, el número de flores aumenta proporcionalmente con el de ciclos cortos.

C – Otras especies de DC.

– *Plumbago Indica* (Nitsch y Nitsch, 1967).

Esta planta de DC cualitativa requiere un mínimo de 9 ciclos (9 hs.) para florecer. Secciones de tallos desprovistos de yemas axilares neoforman yemas vegetativas en medios *in vitro* adicionados con citocininas y AIA. Bajo condiciones de DL dichos órganos se mantienen como tales, pero una vez expuestos durante 4 semanas a DC comienzan a neoformar primordios florales.

El comportamiento descrito induce a pensar que en este caso, como en otros (Baldev, 1962), las yemas actúan directamente como órganos receptores del estímulo de floración. La diferencia en los tiempos mínimos de exposición a DC (7 ciclos a nivel de la planta *in vivo* y de 4 semanas *in vitro*) podría deberse a la necesidad de adquirir determinada condición histomorfológica a nivel de las yemas neoformadas para que comiencen a ser capaces de percibir el estímulo fotoperiódico.

Comportamiento semejante se ha observado en *Cuscuta* (Baldev, 1962). Las yemas neoformadas *in vitro* parecen constituir centros de percepción de DC para florecer.

En el caso anteriormente descrito de *Plumbago* (Nitsch y Nitsch, 1967), los azúcares también parecen jugar un rol para la percepción del estímulo. En presencia de bajas concentraciones (0,35%), las yemas permanecen vegetativas aún bajo DC. A medida que la concentración en el medio aumenta (de 1 a 3,5%), correlativamente se incrementa el número de explantos portadores de primordios florales. En este caso, como en los apuntados para *Chenopodium* y *Perilla* (Harada, 1967), los azúcares reemplazarían, a partir de cierto umbral, la necesidad de un período previo de AIL, indispensable para la posterior percepción del estímulo floral por parte de la planta *in vivo*.

– *Cuscuta reflexa*. (Baldev, 1962).

C. reflexa constituye un caso de PDC cualitativa en extremo interesante pues se trata de una planta parásita carente de clorofila y de hojas verdaderas.

Se caracteriza por poseer haustorios que se introducen en el liber de las plantas huésped. Una de ellas es *Tecoma grandis*, PDL con la que no ha podido demostrarse identidad y transporte mutuo del hipotético "florigen", ya que el estado o inducción de la floración de una no se transmite a la restante y viceversa.

Apices vegetativos de *Cuscuta* cultivados *in vitro* y acompañados de pequeñas escamas de naturaleza foliar, requieren un mínimo de 7 ciclos inductivos (14 hs. de oscuridad y 10 de luz) para iniciar floración del 50% de los explantos, mientras que con exposiciones de alrededor de 130 hs. de oscuridad todos ellos florecen.

Dadas las características de la planta, no parece haber dudas que las yemas actúan como órganos receptores del estímulo floral, siempre y cuando el medio contenga, como en otros casos, relativas altas concentraciones de azúcares (5%).

Resulta evidente que la necesidad de un primer período de AIL (Borthwick y Parker, 1940) es, en el caso de *Cuscuta*, satisfecho por el aporte de azúcares por parte de las plantas que la hospedan.

D – PDL cuantitativas.

Trabajos realizados *in vitro* con secciones de tallos floríferos de tabaco, tuvieron por objeto establecer la "noción de estado inducido irreversible" (Chouard y Aghion, 1961; Aghion-Prat, 1965). Utilizando *Nicotiana tabacum* var. Wisconsin 38 (PI con tendencia a PDL cuantitativa), los autores determinaron la existencia de un gradiente axial de predisposición a la floración, creciente hacia los extremos apicales de los ejes floríferos.

El concepto ha sido reiteradamente objetado. Explantos de ejes floríferos de *Nicotina tabacum* var. Maryland Mammoth (PDL cualitativa) y de *N. sylvestris* (PDL), no neoformaron yemas floríferas bajo condiciones fotoperiódicas no inductivas (Aghion, 1962; Margara, 1974). En ambos casos, las yemas desarrollaron *in vitro* ejes caulinares vegetativos.

Comportamiento semejante muestran otras especies (*Verbascum virgatum*; *Foeniculum vulgare*; *Isatis tinctoria*; *Streptocarpus nobilis*; Nitsch, 1972). Ello demuestra que la noción de "estado inducido irreversible" en explantos de tallos floríferos no constituye una regla general sino una excepción, limitada a ciertas especies.

E – PDL cualitativas, de exigencia previa de vernalización.

1 – Plantas caulescentes.

– *Lunaria annua* (Pierik, 1966, 1990).

L. annua es una especie de requerimiento cualitativo de vernalización y DL para florecer.

Pierik demostró que secciones de pecíolos y nervaduras extraídas de hojas de plantas en estado vegetativo eran capaces de regenerar yemas a relativas altas temperaturas (26° C). Con tratamientos de frío durante 16 semanas y ulterior exposición a fotoperíodos largos, demostró que dichos explantos eran capaces de florecer en un 25% de los casos. De los resultados obtenidos concluyó que aquéllos podían captar el estímulo de vernalización sin previa diferenciación de meristemas primarios como órganos termoreceptores.

Las conclusiones del autor son susceptibles de un análisis crítico, si se tiene en cuenta el extenso período (16 semanas) de exposición a frío (5° C) durante el cual pueden haberse producido procesos de dediferenciación y divisiones celulares previos a la neoformación de yemas. Cabe suponer, como ocurre en otras especies (Picard, 1968), que la percepción del estímulo de vernalización por parte de *Lunaria* podría ocurrir en fases muy tempranas de la formación de meristemas primarios generadores de las yemas neoformadas.

Debe tenerse en cuenta que la percepción de aquel estímulo ocurre, según las especies involucradas, en diferentes estadios de diferenciación histomorfológica de las yemas sometidas a frío (Picard, 1968).

2 – Plantas en roseta.

– *Cichorium intybus* (Nitsch y Nitsch, 1964; Paulet, 1965, Paulet y Nitsch 1965; Margara, 1965, 1974; 1988).

Achicoria es quizás la especie mejor estudiada en relación a los requerimientos de frío y de días largos necesarios para florecer *in vitro*. *In vivo*, es una planta bienal, de hábito inicial en roseta, poseedora de requerimientos cualitativos de vernalización y DL para florecer (Hartman, 1956).

En achicoria la fase de vernalización puede ser reemplazada por acción del ácido giberélico (AG₃) bajo temperaturas relativamente altas (Lona, 1956).

El mismo estado puede también alcanzarse sometiendo las raíces a temperaturas de 1 a 2° C durante 3 o 4 meses de almacenaje. Plantadas a principios de primavera generan plantas que entallan, florecen y fructifican bajo los días largos del verano.

La condición de planta vernalizada parece involucrar a casi todos los órganos y tejidos de achicoria. Secciones de raíces constituidas por pa-

rénquima vascular, cambium y liber, son capaces de neoformar botones florales bajo fotoperíodos largos y relativas altas temperaturas (Nitsch y Nitsch, 1964; Margara, 1965). Idéntico comportamiento muestran explantos de hojas, a condición que aquéllos se extraigan de plantas previamente vernalizadas (Margara, 1965).

De todo lo expuesto Nitsch y Nitsch (1964) concluyeron que las bajas temperaturas actúan sobre toda la planta orientando al metabolismo de sus órganos hacia la floración. En otras palabras, la condición de achicoria vernalizada también radicarla en los tejidos de las hojas y raíces de la planta *in vivo* (Margara, 1965).

Sin embargo, cabría el mismo razonamiento crítico que el efectuado para *Lunaria*. Cabe la siguiente pregunta: en achicoria, ¿en qué medida los meristemas generadores de nueve hojas y el cambium de las raíces almacenadas a frío no son susceptibles de realizar divisiones celulares capaces, *per se*, de captar el estímulo de vernalización y no hacerlo a nivel de tejidos definitivos?

Las exigencias de vernalización y DL *in vitro* son idénticas a las requeridas por la planta *in vivo*. Sólo son capaces de diferenciar primordios florales si previamente los explantos son vernalizados (si aún no lo están), expuestos luego bajo fotoperíodos largos, cuyo umbral crítico oscila alrededor de las 14 hs. (Margara, 1988)

La fisiología de la vernalización *in vitro* parece diferir de la que controla el fenómeno *in vivo*. Ello parece ser así pues el AG3 es incapaz de reemplazar *in vitro* la necesidad de frío (Lona, 1956; Margara, 1988).

Los explantos de raíces vernalizadas comienzan a formar primordios florales luego de 10 días de cultivo *in vitro* si se los expone a DL desde la fecha de "siembra". Achicoria puede perder la aptitud para florecer si durante ese período los explantos se exponen a DC u OC. Las yemas neoformadas se comportan como vegetativas y sólo vuelven a ser capaces de florecer luego de exposición a frío (5° C) durante 6 a 8 semanas seguida de fotoperíodos de 14 o más horas.

De ello se deduce que el efecto del DL sobre la floración *in vitro* se adquiere durante un breve período, ubicado entre el 14° y 21° día a partir de la fecha de cultivo. Durante los primeros 14 días se diferencian las yemas, las que a partir de allí demuestran ser aptas para la percepción del estímulo fotoperiódico.

La presencia de auxinas en los medios de cultivo de achicoria inhibe la floración *in vitro* bajo

DL y aún durante períodos relativamente breves de acción del regulador (Paulet, 1965). Es probable que la hormona modifique de algún modo el patrón de neoformación de las yemas, alterando la capacidad de percepción del estímulo fotoperiódico.

Fenómenos de reversión del estado floral ocurren con mucha más frecuencia en explantos cultivados *in vitro* que en las plantas *in vivo* (Margara, 1964). Secciones de tallos floríferos de tabaco; ápices caulinales de remolacha; fragmentos de jóvenes inflorescencias de puerro y capítulos de crisantemo pueden manifestar reversión al estado vegetativo en determinadas condiciones *in vitro*. Ello parece sugerir que los ápices de ejes floríferos en crecimiento constituyen una fase transitoria del desarrollo reproductivo, aún no comprometida irreversiblemente en la vía sexual (Margara, 1988).

La presencia de azúcares en relativas altas concentraciones en los medios de cultivos es esencial e insustituible para la expresión floral *in vitro*. Cabe preguntar si los mismos actúan sólo como agentes tróficos o si tienen alguna participación en el mecanismo de la floración.

F – Otras PDL cualitativas.

– *Baeria chrysostoma* (Loc, 1946).

Esta especie posee un umbral de 15 hs. para florecer. En regiones desérticas de California cumple su ciclo en sólo 19 días hasta floración. No obstante, si durante los primeros 40 días de ciclo vegetativo las plantas se mantienen a DC, ellas pierden su condición de PDL, transformándose en PI (Sivori y Went, 1944).

In vitro, las plántulas florecen y fructifican no sólo bajo DL sino también en DC, aunque alargando el ciclo hasta floración.

– *Sinapis alba* (Deltour, 1967).

S. alba es una PDL estricta que posee un umbral crítico de 10 hs. Bajo DC no florece ni aún después de 150 días de ciclo vegetativo.

Apices embrionarios cultivados *in vitro* generan plántulas a condición que el medio contenga 4% de sacarosa. Bajo DL *S. alba* muestra 100% de floración en medios con diferentes concentraciones de nitrógeno. Bajo DC florece aunque más tardíamente, aumentando el porcentaje de explantos florecidos a medida que la concentración de aquel nutriente disminuye.

De lo expuesto precedentemente, Deltour concluye que la hipótesis de Klebs, que postula que la floración es por lo general favorecida por una

alta relación C/N, parece útil y aplicable para explicar los resultados obtenidos. Sin embargo, ello no explica el hecho que bajo DC la planta no muestre signos de floración aún bajo un largo ciclo vegetativo. Quedaría por demostrar que en condiciones *in vivo*, aumentos de la relación C/N son capaces de inducir floración bajo esa condición fotoperiódica. La inhibición del fenómeno en aquellas condiciones parece obedecer a otros factores, más que la simple relación cuantitativa C/N.

– *Vicaria* ssp.

La condición de PDL estricta se manifiesta también *in vitro*, siempre y cuando los ápices sean acompañados por uno o más pares de hojas. En ausencia de estos órganos aquéllos llegan a generar primordios de sépalos o con sépalos y primordios de pétalos, sin formación de androceo y gineceo.

El comportamiento de *Vicaria* es semejante al de *Cestrum diurnum*, en el sentido que la presencia de hojas es necesaria para la percepción del estímulo floral.

La formación de esbozos de sépalos y pétalos en ausencia de androceo y gineceo plantea nuevamente el interrogante de si la formación de ciclos florales auxiliares forma parte de la inducción floral propiamente dicha, o si obedece a mecanismos conexos, aunque de diferente naturaleza fisiológica.

G – Plantas Indiferentes (PI)

– *Helianthus annuus* (Herickson, 1954).

Las experiencias con girasol *in vitro* se efectuaron cultivando ápices de plántulas de 5 días de edad, acompañados con fragmentos cotiledonares de diferentes tamaños.

La floración se circunscribió a explantos acompañados con pequeñas piezas cotiledonares cultivadas en presencia de sacarosa (2%), a intensidades de luz mayores de 400 fc, bajo fotoperíodos de 16 hs.

Explantos acompañados con más de la mitad de un cotiledón no florecieron aún bajo altas intensidades de luz. Por otra parte, la formación temprana de raíces inhibió floración bajo cualquier condición de cultivo y de configuración de los explantos.

En el caso descrito es imposible concluir que la presencia de tejido cotiledones es o no un requisito que regula floración, ya que explantos sólo conformados por la plúmula no crecen en pre-

sencia de azúcares ni a intensidades lumínicas superiores a 400 fc.

Aunque el mecanismo de la floración en esta especie *in vitro* resulta muy oscuro, la luz de cierta intensidad parece inactivar inhibidores de la floración de origen aparentemente cotiledonar, siempre y cuando los cotiledones no sobrepasen determinado volumen.

H – Inducción del desarrollo floral normal en plantas de multiplicación agámica.

Muy escasos trabajos se han realizado sobre las condiciones fisiológicas que regulan la floración o la transformación de primordios florales en flores adultas en ciertas especies que normalmente se reproducen por vía agámica.

Ciertos cultivares de ajo (*Allium sativum* L.) emiten escapos florales portadores de primordios florales que terminan por abortar o llegar a formar flores con anomalías morfológicas que impiden la fecundación o el desarrollo de semillas viables (Itoh y Ogura, 1977; Kothari y Shah, 1974; Slimada y Shozakis, 1954).

La inhibición del desarrollo floral en ajo se ha atribuido a fenómenos de competencia entre los primordios florales y la diferenciación de bulbillos ubicados en el receptáculo del mismo escapo (Koul y Gobril, 1970)

Secciones de esos órganos cultivados *in vitro* en el medio de White-Nitsch-Morel adicionado con AG_3 100 mg l⁻¹ emitieron, en un 25% de los casos flores normales, fenómeno que se correlacionó con la inhibición del crecimiento de los bulbillos y su transformación, por acción de la giberelina, en órganos foliosos, filiformes (Tizio, 1979).

A pesar de la emisión de flores de aspecto normal, estas no formaron semillas ni se observó presencia de rudimentos seminales en los ovarios.

Trabajos en curso de realización (Rigone y Tizio, comunicación personal) muestran profusa fructificación en el medio de White-Nitsch-Morel modificado, en presencia de AG_3 100 mg. l⁻¹.

I – Floración y fructificación *in vitro* de especies leñosas.

La bibliografía sobre el particular es hasta la presente, casi inexistente.

Trabajos recientes muestran que ciertos cultivares de vid (*Vitis vinifera*, cv Pinot Blanco) son capaces de florecer y fructificar, aunque en muy baja proporción luego de cultivos reiterados y su-

cesivos de estacas uninodales en el medio de Galzy (1964) modificado (Martínez et al, 1989).

El fenómeno sólo ocurre cuando los explantos uninodales mantienen la hoja axilar. Si se lograra que tal comportamiento abarque otros cultivares, se abriría una línea de trabajos de mejoramiento genético que podrían realizarse en cualquier época del año y no sólo durante los cortos períodos de floración a campo.

CONCLUSIONES GENERALES

El análisis de los casos expuestos sobre la fisiología de la floración *in vitro* permite establecer una serie de conclusiones acerca de las similitudes y diferencias que aquella muestra en relación al mismo mecanismo *in vivo*.

Los comportamientos descritos permiten arribar a las siguientes conclusiones generales:

- 1 – Las exigencias fotoperiódicas y en algunos casos de vernalización son idénticas a las requeridas por las plantas *in vivo*; necesidad de la existencia de hojas como órganos receptores del estímulo fotoperiódico. En PDC: *Chrysanthemum*, *Pharbitis*, *Cestrum diurnum*; en PDL: con exigencias de vernalización: *Lunaria annua*; *Cichorium intybus*; En PDL sin aquella exigencia: *Baeria chrysostoma*; *Vicaria sp.*
- 2 – En otras especies de las mismas categorías fotoperiódicas, probable preexistencia de potencial de floración en meristemas caulinares; inhibición por acción de tejidos u órganos acompañantes; floración *in vitro* bajo fotoperiodos que no son inductivos *in vivo*: *Perilla frutescens*; *Chenopodium sp.*; *Beta vulgaris*; *Helianthus annuus*.
- 3 – Captación del estímulo fotoperiódico por yemas neoformadas: *Plumbago indica*; *Cuscuta reflexa*.
- 4 – Frecuencia de la reversión o pérdida de la inducción fotoperiódica y de vernalización *in vitro*: *Cichorium intybus*; *Beta vulgaris*; *Verbascum sp.*; *Foeniculum vulgare*; *Isatis tinctoria*; *Streptocarpus nobilis*.
- 5 – Inhibición de la floración por acción auxínica: *Perilla frutescens*; *Lunaria annua*.
- 6 – Rol esencial de los azúcares en los medios de cultivo: *Perilla frutescens*; *P. nankinensis*; *Plumbago indica*; *Chenopodium sp.*; *Sinapis alba*.
- 7 – Probables diferencias de los mecanismos de vernalización *in vitro* e *in vivo* en relación

a la acción reemplazante del AG₃: *Cichorium intybus*.

- 8 – Posibilidades de mejoramiento genético continuo por floración y fructificación *in vitro*: *Allium sativum*; *Vitis vinifera*.

BIBLIOGRAFIA

- Aghion, D. 1962. C. r. Acad. Sc. Paris 255: 993-995.
- Aghion-Prat, D. 1965. These. Physiol. vég. 3: 229-303.
- Baldev, B. 1962. Ann. Bot. 26: 173-180.
- Blake, J. 1966. Nature 211: 990-991.
- Borthwick, H. A. and M. W. Parker. 1940. Bot. Gaz. 101: 806-816.
- Caplin, S. M. and W. O. Siegel 1967. Amer. J. Bot. 54: 596-600.
- Chailakhyan, M. et R. Butenko. 1959. Dokl. Akad. Nauk. SSSR 129: 224-228.
- Chouard, P. et D. Aghion. 1961. C. r. Acad. Sc. Paris 252: 3864-3866.
- De Fossard, R. A. 1966. Austral. J. Sci. 29: 427-428.
- Deltour, R. 1967. C. r. Acad. Sc. Paris 265, Serie D: 1932-1935.
- El-Nil, M.M.A. 1977. Plant Sc. Letters. 9: 259-264.
- Etoh, T. and H. Ogura. 1977. Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univ. 13: 77-88.
- Harada, H. 1967. Nature 214: 1027-1028.
- Hartman, T. A. 1956. Proc. Kon. Ned. Akad. Wet. 59: 677-684.
- Herickson, C. E. 1954. Plant Physiol. 29: 536-538.
- Jacobs, W. P.; V. Raghavan and M. P. Kaushik. 1965. Proc. Intrn. Conf. Plant Tissue Culture pp. 225, Berkeley, California.
- Kothari, I. L. and J. J. Shah. 1974. Phytomorphology 24: 42-48.
- Koul, A. K. and N. R. Gohil. 1970. Cytologia 35: 197-202.
- Lang, A. 1952. Ann. Rev. Plant Physiol. 3: 265-306.
- Lona, F. 1956. L'Ateneo Parmense 27: 867-875.
- Loo, S. W. 1946. Amer. J. Bot. 33: 382-388.
- Margara, J. 1964. C. r. Acad. Sc. Paris 259: 4787-4790.
- Margara, J. 1965. C. r. Acad. Sc. Paris 260: 278-281.
- Margara, J. 1974. C. r. Acad. Sc. Paris 278, Serie D: 1195-1198.
- Margara, J. 1988. Multiplicación vegetativa y cultivo *in vitro*. Ed. Mundi- Prensa. Madrid.
- Martínez, E. A.; C. Riquelme et R. Tizio. 1989. C. r. Soc. Biol. 183: 203-207.
- Nitsch, J. P. et C. Nitsch. 1964. Bull. Soc. Bot. France 111: 299-304.
- Nitsch, C. and J. P. Nitsch. 1967. Planta 72: 371-384.
- Paulet, P. 1965. Thèse. Rev. Gén. Bot. 859: 697-788.

- Paulet, P. et J. P. Nitsch. 1964. C. r. Acad. Sc. Paris 258: 5952-5955.
- Picard, C. 1968. *Aspects et mécanismes de la vernalisation*. Masson et Cie. Paris.
- Pierik, R. L. M. 1966. *Naturwiss.* 53: 1-2; 53:45.
- Pierik, R. L. M. 1990. *Cultivos de tejidos en plantas superiores*. Ed. Mundi-Prensa,
- Raghavan, V. 1961. *Amer. J. Bot.* 48:870-876.
- Raghavan, V. and W.P. Jacobs. 1961. *Amer. J. Bot.* 48:751-760.
- Schwabe, W.W. 1950. *J. Exp. Bot.* 1:329-343.
- Sivori, E. and F.W. Went, 1944. *Bot. Gaz.* 105:321-329.
- Tizio, R. 1979. *C.r.Acad.Sc. Paris* 289, Série D:401-404.