

Tesis de Posgrado

Efectos de los ácidos indolacético y giberélico sobre el crecimiento de *Scenedesmus obliquus* T. Ktz.

Accorinti, Juan

1960

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Accorinti, Juan. (1960). Efectos de los ácidos indolacético y giberélico sobre el crecimiento de *Scenedesmus obliquus* T. Ktz.. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1054_Accorinti.pdf

Cita tipo Chicago:

Accorinti, Juan. "Efectos de los ácidos indolacético y giberélico sobre el crecimiento de *Scenedesmus obliquus* T. Ktz.". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1960. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1054_Accorinti.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Efectos de los ácidos indolacético y giberélico,
sobre el crecimiento de Scenedesmus obliquus. T.Ktz.

-Juan Accorinti-

Resumen presentado para optar al Título de
Doctor en Ciencias Naturales.

Año 1960

Res de Tesis: 1052

INTRODUCCION

El objeto del trabajo, ha sido estudiar los efectos que producen los reguladores hormonales AIA y 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. Mientras algunos obtienen resultados positivos, ó sea que el AIA induce el crecimiento celular, otros determinan efectos inhibitorios. Podemos referir como ejemplo los resultados de dos de los trabajos: Leonian y Lilly (1937) trabajando con cinco especies de algas (Chlorella miniata, C. pyrenoides, Cystococcus cohaerans, Oocystis naegelli y Scenedesmus flavescens) hallan sin excepción que concentraciones altas (1: 10.000) resultan tóxicas y concentraciones bajas (1: 10.000.000) no inducen ningún estímulo.

Pratt (1938) usando concentraciones de 10 y 50 ppm obtuvo aumento en la multiplicación celular de Chlorella vulgaris. Este autor ensayó además sobre dicha especie, otros compuestos del indol (ácido indolpropiónico y ácido indolbutírico), llegando a la conclusión que dichas sustancias ejercen sobre el crecimiento de Chlorella un efecto estimulante específico.

De acuerdo a ésos resultados, parece ser 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.

Respecto al AG, la bibliografía es extensa en lo que se refiere a estudios efectuados con plantas superiores, pero no hemos encontrado en la misma ningún ensayo con algas unicelulares.

MATERIAL Y METODO

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

Condiciones de los ensayos: 1- Medio de cultivo usado: Detmer modificado. Al medio Detmer original, compuesto por $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KPO_4H_2 , MgSO_4 , KCl y Fe_3Cl , se agregó los micronutrientes: Cu, Zn, Mn y B, reemplazándose el Fe_3Cl por tartrato férrico. 2- El pH fué ajustado en todos los ensayos a 6,8, previamente a la esterilización del medio nutritivo. 3- La intensidad de luz recibida por los cultivos fué de 2800 lux. 4- La temperatura se mantuvo constante a 28° C, sumergiendo los cultivos en un baño termostático. 5- 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. 6- La densidad de la siembra fué siempre la misma para todos los ensayos (10.000 células por mm^3 en 10 ml de medio), obtenida por dilución, de material procedente de cultivos de enriquecimiento mantenidos al efecto. Los recuentos se efectuaron con cámara de Neubauer.

Tratamiento con AIA

El AIA fué ensayado a las concentraciones de 0,5- 1- 5- 10- 20- 30- 50- 70 y 90 ppm.

Tratamiento con AG

Se ensayó a las concentraciones de 10- 20- 30- 40- 50 y 60 ppm. Las mediciones celulares se efectuaron con micrómetro ocular. Se realizó el análisis estadístico de los resultados obtenidos en dichas mediciones, determinándose el error standard, la desviación de la media y

la desviación de la diferencia entre las medias, estableciéndose la significancia de dicha diferencia.

RESULTADOS

Altas concentraciones de AIA (10- 90 ppm) inhibieron la multiplicación del alga, mientras que bajas concentraciones (0,5- 5 ppm) no produjeron estímulo ni inhibición.

El AG ensayado a las concentraciones de 30- 40- 50 y 60 ppm, produjo inhibición del crecimiento; pero con 10 y 20 ppm se obtuvo 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 patrón. Expresado en porcentaje, el aumento fué 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.


Juan Accorinti

Dr. Garodi

FCEN-BA
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**Efectos de los ácidos indolacético y giberélico,
sobre el crecimiento de Scenedesmus obliquus. T.Ktz.**

-Juan Accorinti-

**Tesis presentada para optar al Título de
Doctor en Ciencias Naturales.**

TRAB. FINAL 1053

Año 1960

EFECTOS DE LOS ACIDOS INDOLACETICO Y GIBERELICO
SOBRE EL CRECIMIENTO DE SCENEDESMUS OBLIQUUS T. KTZ.

-por Juan Accorinti-

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 fué 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 fué 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.

Introducción:

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 de AIA sobre distintas especies de algas. Leonian y Lilly (1937) trabajando con Chlorella miniata, C. pyrenoides, Cystococcus cohaerans, Oocystis naegelii:

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 (1939) estudiaron el efecto de cinco ácidos orgánicos monobásicos sobre la reproducción y tamaño celular en Chlorella vulgaris, Coccomyxa simplex y Mesotanium 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 Mesotanium. 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 Mesotanium.

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 ha 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 protonema de Dryopteris arthrospora, 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 éstas 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 $10 \mu\text{g/ml}$ de AIA y $0,1 \mu\text{g/ml}$ 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 Azara pseudoplatanus y aplicando AIA y AG respectivamente a las concentraciones de 0,5-0,1 μg y 1,0-0,5 μg por g de lanolina, observó que la aplicación de ambos produce una zona de xilema mayor que con la sólo 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 reanuda 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, inédito: "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 micromanipulación, 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 1176%.

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 1000 ml con agua destilada (Meyer y Anderson, 1941). 2-Solución "madre" de micronutrientes: H_3BO_3 : 2,86 g (0,5 ppm de B), $MnCl_2 \cdot 4 H_2O$: 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 1000 ml con agua destilada. Las concentraciones de B, Mn, Zn y Cu se tomaron de Arnon (1938) reemplazándose los sulfatos de cinc 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 fué ajustado en todos los ensayos a 6,8 , previamente a la esterilización del medio nutritivo. b- La intensidad de luz recibida por los cultivos fué de 2800 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 fué siempre la misma para todos los ensayos (10.000 células por mm³ en 10 ml de medio), obtenida por dilución, de material procedente 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. Fué ensayado a las concentraciones de 0,5- 1- 5- 10- 30- 50- 70- y 90 ppm.

El AG se preparó solubilizando 28 mg de la droga(1) en agua destilada, llevando luego a 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.

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

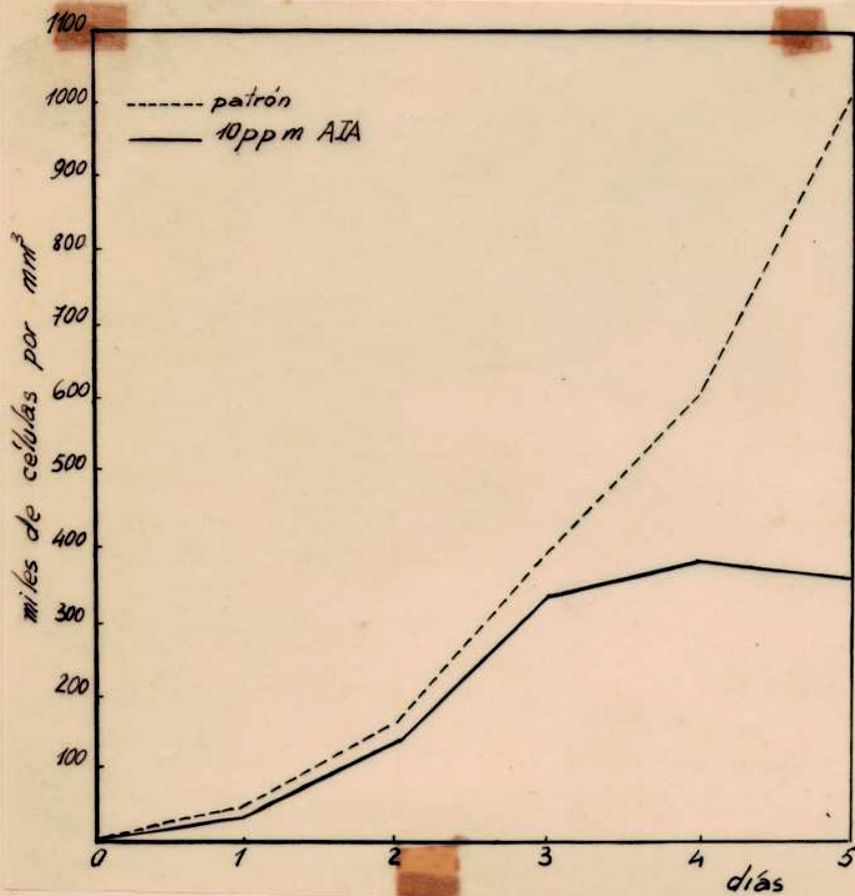
El procedimiento adoptado para los ensayos definitivos, en los tratamientos con AG, fué el siguiente: Las muestras para efectuar los recuentos y mediciones, se tomaron todas al mismo tiempo y se llevaron a pequeños tubos. Se tomó 0,2 ml de cada muestra y, usando micropipeta de $9,3/\mu$ l se agregó a cada una $18,6/\mu$ 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

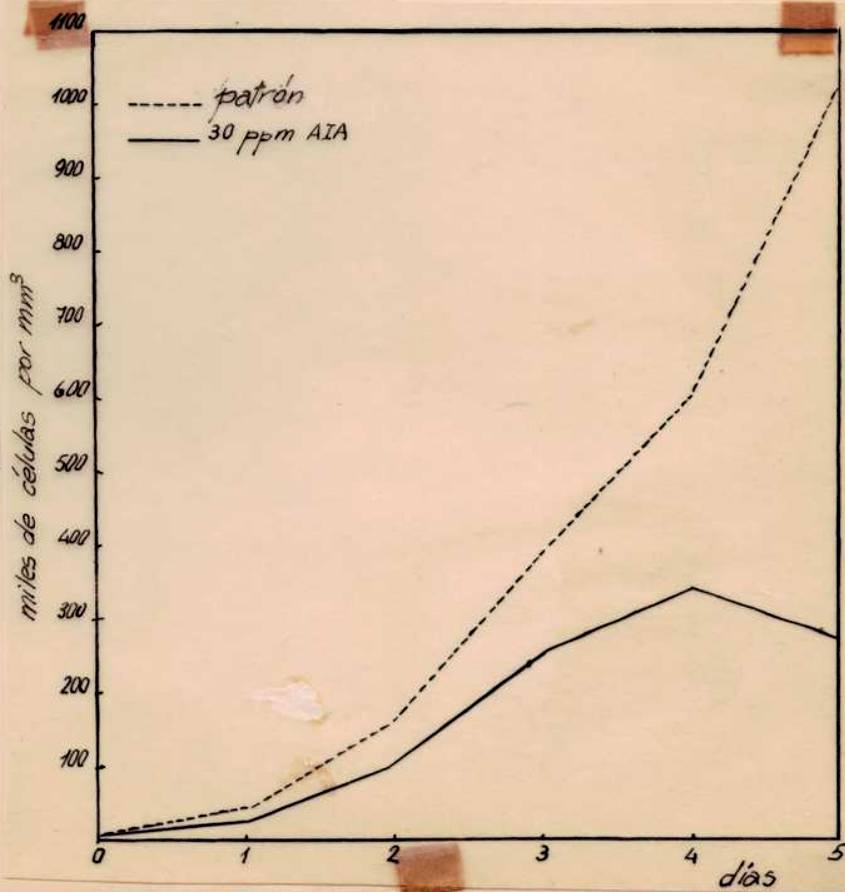
Los resultados se exponen en los gráficos 1(a, b, c y d) y en el gráfico 2, donde se consigna la población obtenida a partir de la fecha de siembra, los días 1º, 2º, 4º y 5º para las concentraciones de 10 a 90 ppm y los días 1º, 2º, 4º y 6º para las de 0,5 a 5 ppm.

EFFECTOS DEL AIA SOBRE LA MULTIPLICACION DE S. OBLIQUUS



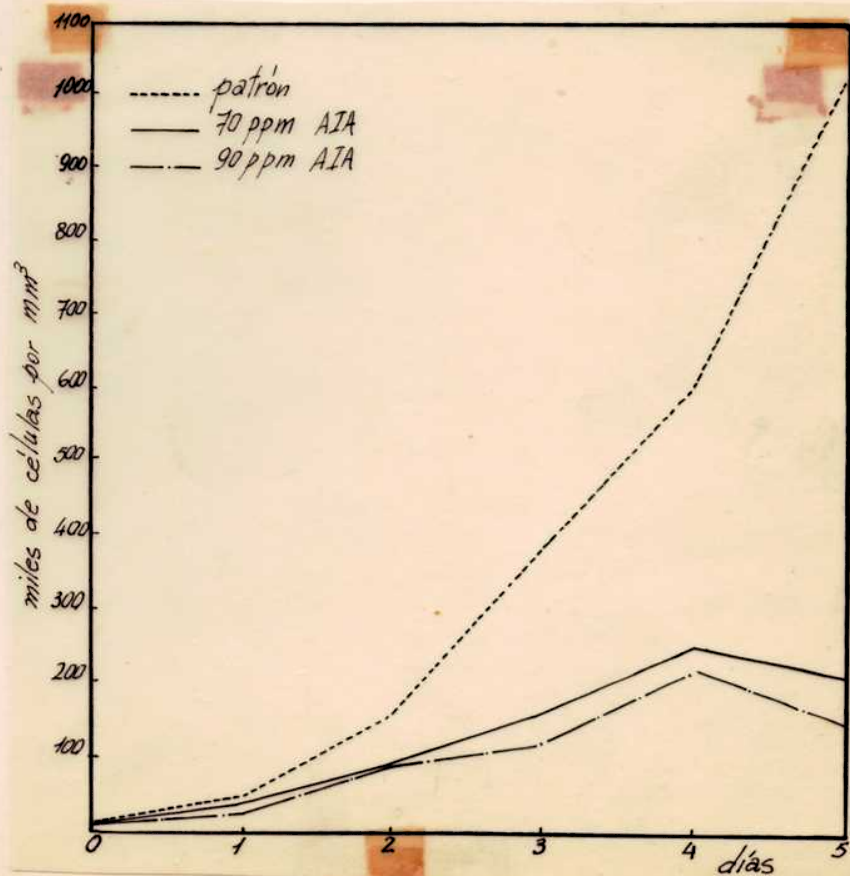
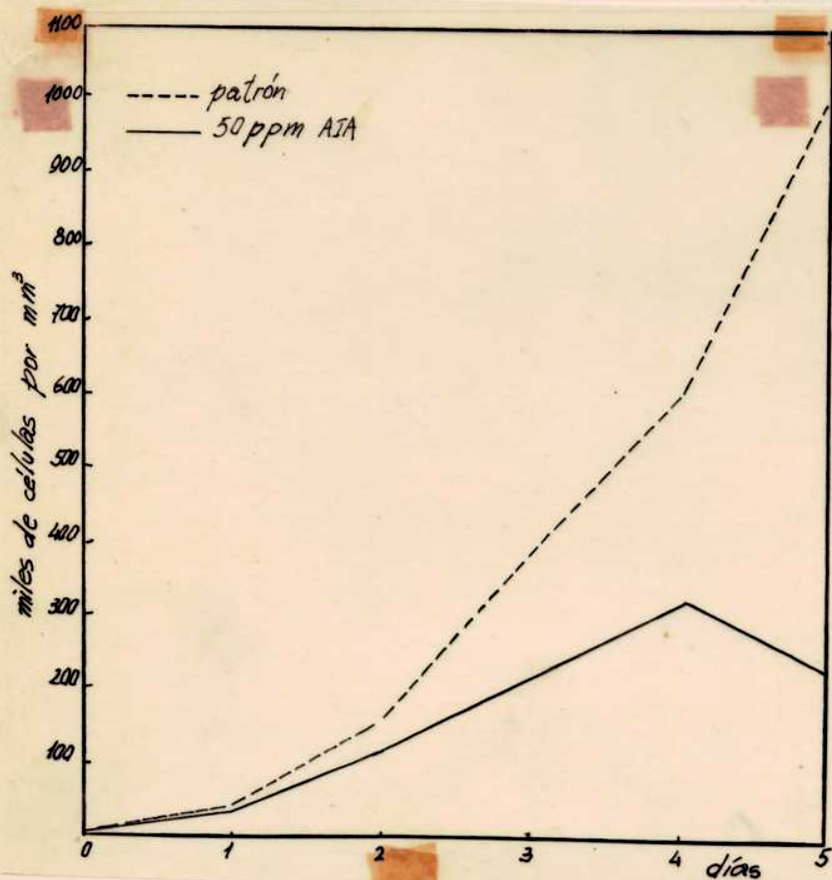
-Gráfico 1 (a, b, c y d)-
 -Apéndice: Cuadro 1-

-8-



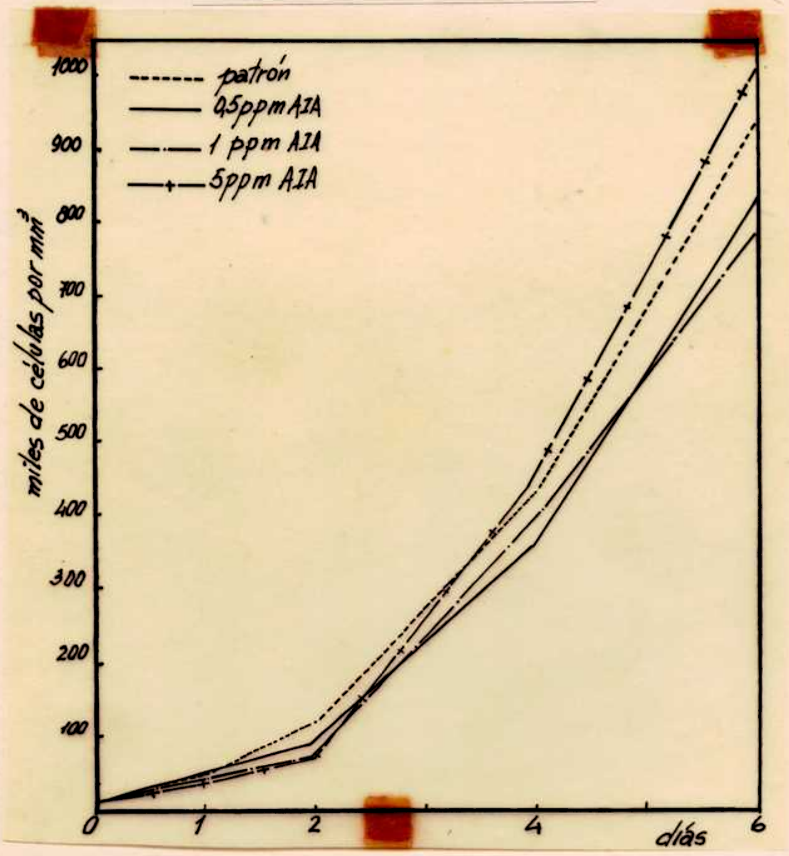
-b-

EFFECTOS DEL AIA SOBRE LA MULTIPLICACION DE S. OBLIQUUS



EFFECTOS DEL AIA SOBRE LA MULTIPLICACION DE S. OBLIQUUS

-Gráfico 2-
-Apéndice: Cuadro 2-



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 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 masivo. El tratamiento se mantuvo durante 10 días; a partir del 6º se notó aumento del tamaño de las células, que fué 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, fué 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.

Ensayo definitivo:

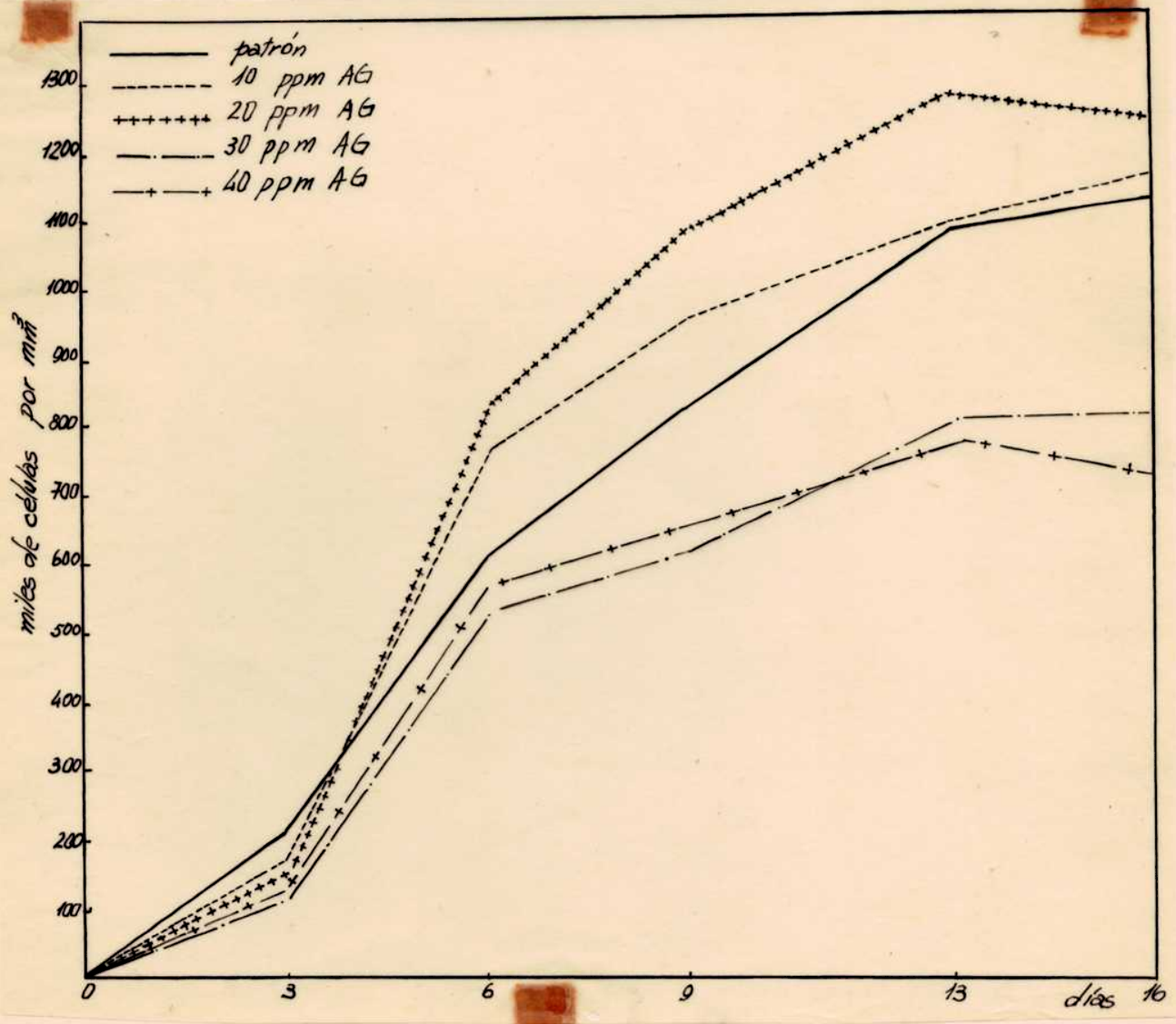
Siguiendo el procedimiento descrito (Material y Método, pg.7), se efectuaron los recuentos y mediciones al 3º, 6º, 9º, 13º y 16º días a partir de la fecha de siembra.

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.

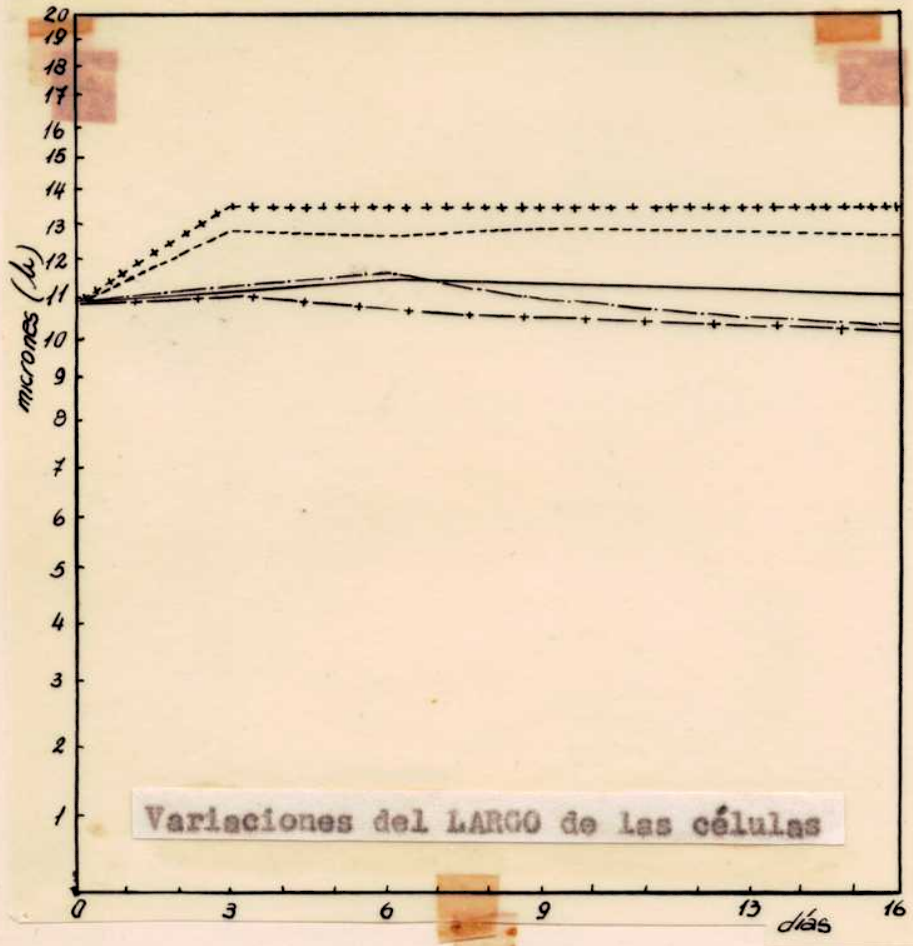
Los resultados se exponen en los gráficos 3, 4 y 5, que corresponden a la multiplicación, largo y ancho de las células respectivamente; éstos dos últimos se expresan en escala semilogarítmica.

EFFECTOS DEL AG SOBRE LA MULTIPLICACION DE S. OBLIQUUS

-Gráfico 3-
-Apéndice :Cuadro 3-



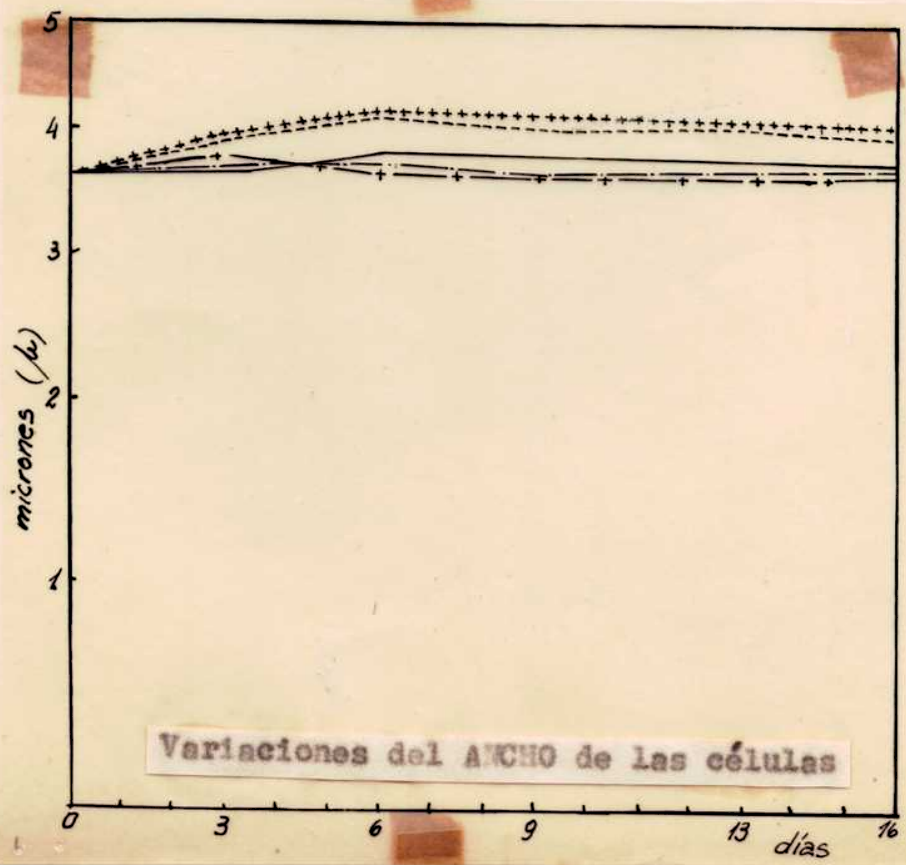
EFFECTOS DEL AG SOBRE EL TAMAÑO CELULAR DE S. OBLIQUUS



-Gráfico 4-
-Apéndice: Cuadro 4-

Referencias:

- patrón
- - - 10 ppm AG
- + + + + 20 ppm AG
- - - - 30 ppm AG
- + - 40 ppm AG



-Gráfico 5-
-Apéndice: Cuadro 5-

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 porciento. Los valores correspondientes se tomaron del día 9º del tratamiento (mayor diferencia entre el patrón y 20 ppmAG)

AG ppm	nº células/ mm^3	diferencia en % respecto al patrón
0 (patrón)	832.337	—
10	958.581	> 15,3
20	1.082.093	> 30,0
30	621.923	< 25,2
40	655.813	< 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 de 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, obtenidos a partir de las medias respectivas (entre el patrón y los distintos tratamientos),

SIGNIFICANCIA DE LAS DIFERENCIAS (1)

A- Largo celular (Apéndice: Cuadro 6)

AG ppm	Diferencias de los tratamientos respecto al patrón				
	D I A S				
	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 < ++

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.

B- Ancho celular (Apéndice: Cuadro 7)

AG ppm	Diferencias de los tratamientos respecto al patrón				
	D I A S				
	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 > +	0,13 < ++	0,17 < +	0,13 < +	0,11 < +

(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, fué necesario determinar primero qué proporción de la población correspondía a las células maduras, y si éste 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, ó sea las 10 mayores (10% de la muestra). Después se promediaron los valores de las 20 primeras, ó 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 (Apéndice: Tablas de Valores).

-LARGO CELULAR-

-ANCHO CELULAR-

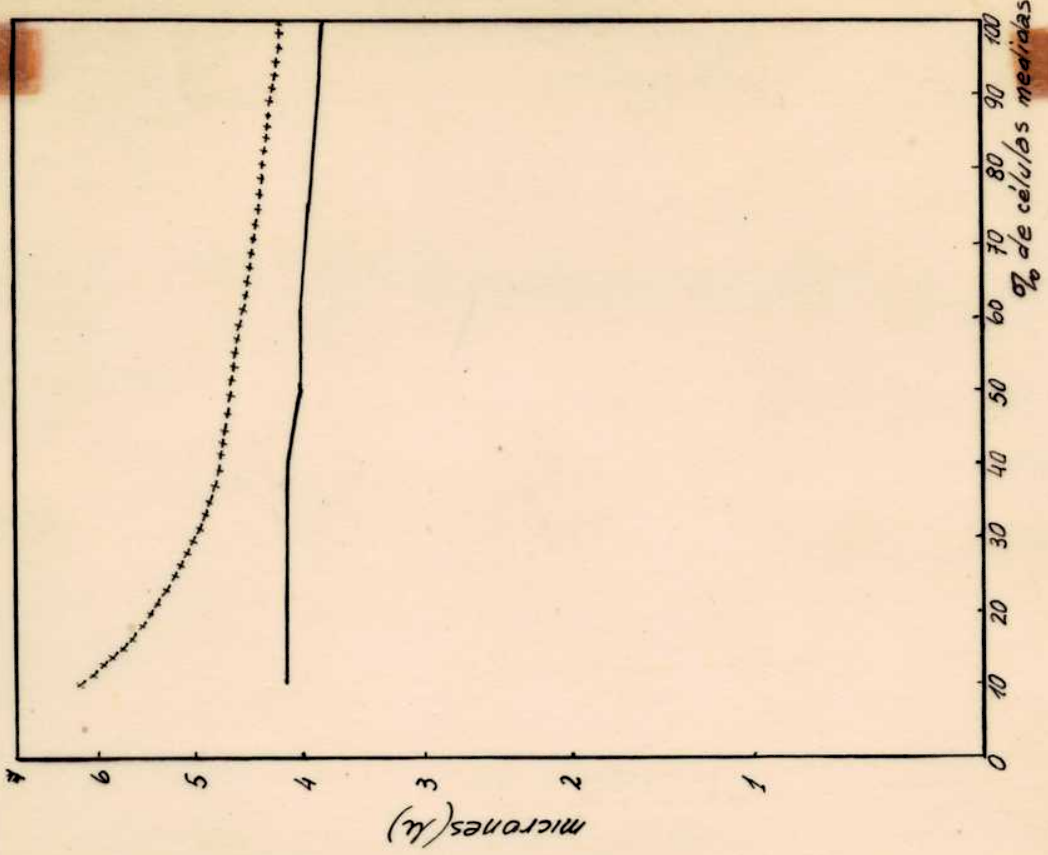
℅ células medidas	Patrón largo en micrones	20 ppm AG largo en micrones	℅ de aumento respecto al patrón
10	14,31	20,05	35,37
20	14,33	13,75	30,32
30	14,34	13,08	35,50
40	12,03	17,19	35,63
50	12,23	16,54	34,71
60	11,96	15,30	32,07
70	11,73	15,12	23,37
80	11,56	14,57	26,97
90	11,38	14,12	24,09
100	11,12	13,67	22,94

℅ 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	16,32
50	4,06	4,66	14,56
60	4,02	4,52	12,56
70	3,96	4,42	11,67
80	3,39	4,34	11,51
90	3,34	4,26	10,74
100	3,30	4,17	9,78

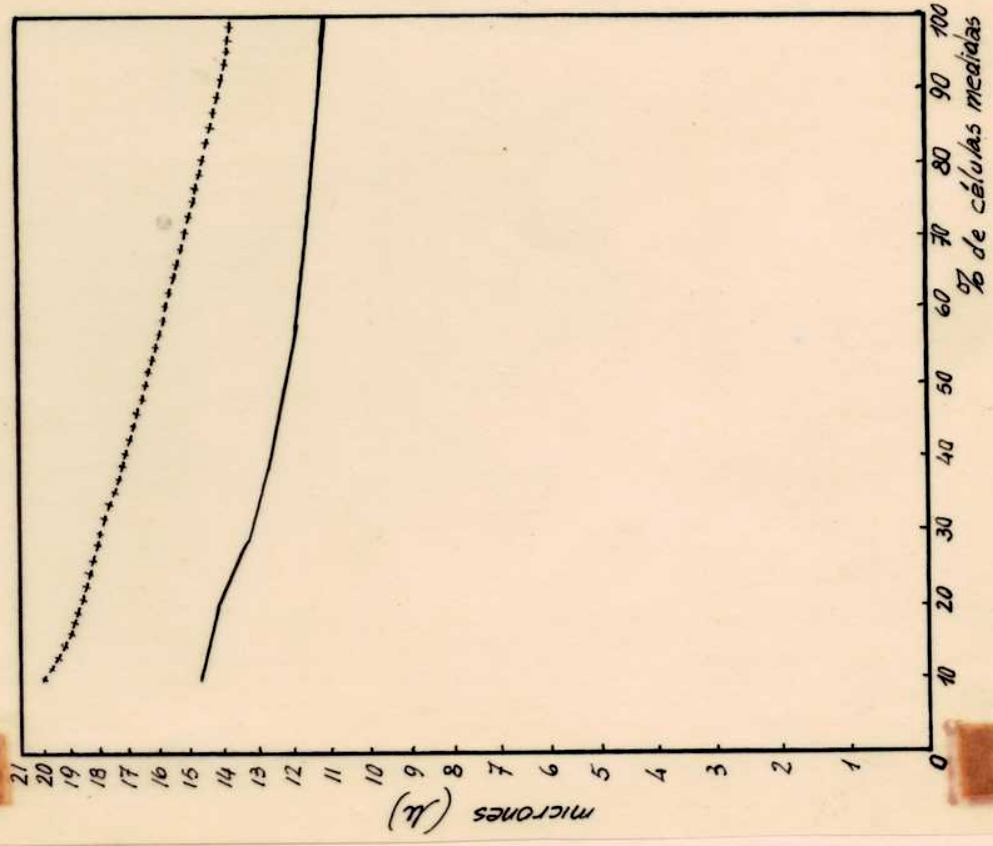
Tabla A (Gráfico a)

Tabla B (Gráfico b)

-Gráfico b-
ANCHO CELULAR



-Gráfico a-
LARGO CELULAR



Referencias:

— Patrón
 + + + + 20 ppm AG

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.

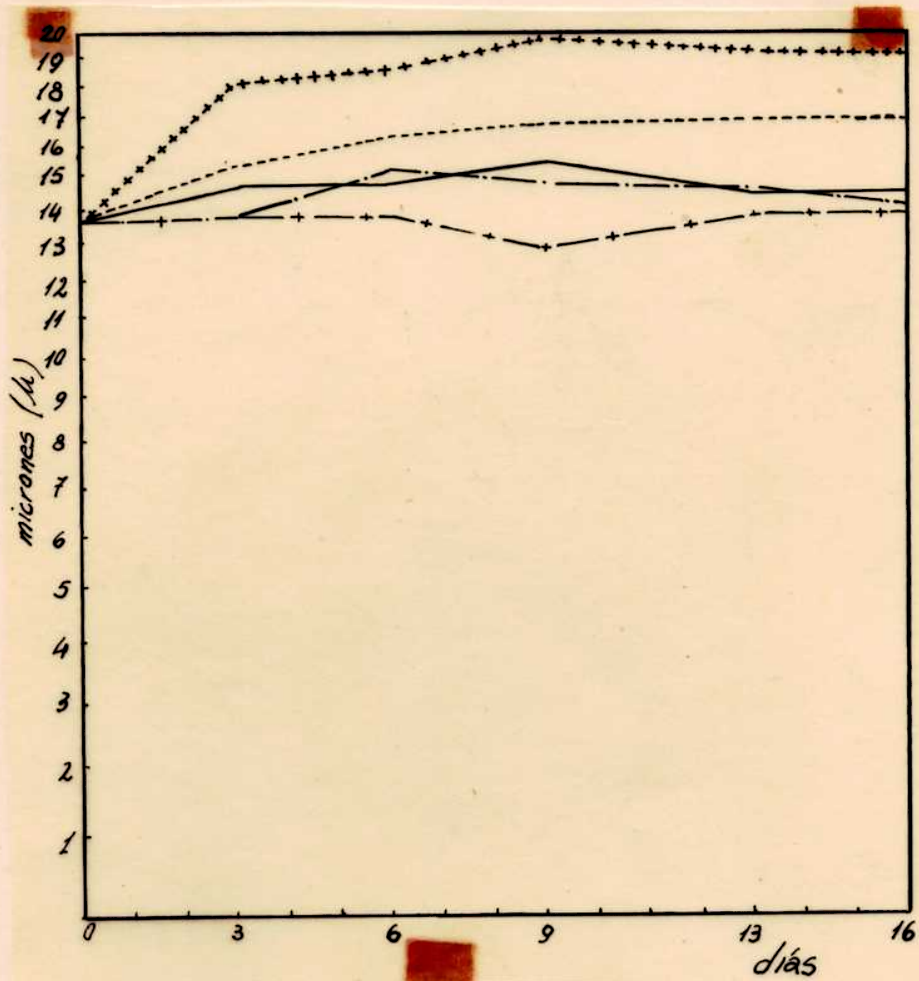
Las diferencias entre los cultivos patrón y los tratados aumentaron en forma constante, lo cual hizo imposible obtener un promedio de un número conveniente de células. Por ésta razón se optó en forma arbitraria para los próximos cálculos, tomar el 15% de las mayores, que con sólo 100 mediciones corresponde 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.

EFFECTOS DEL AG SOBRE EL TAMAÑO CELULAR DE S. OBLIQUUS

Valores correspondientes al 15% de las células, medidas a partir de las mayores.

-Gráfico 6-LARGO CELULAR
-Apéndice:Cuadro 8-



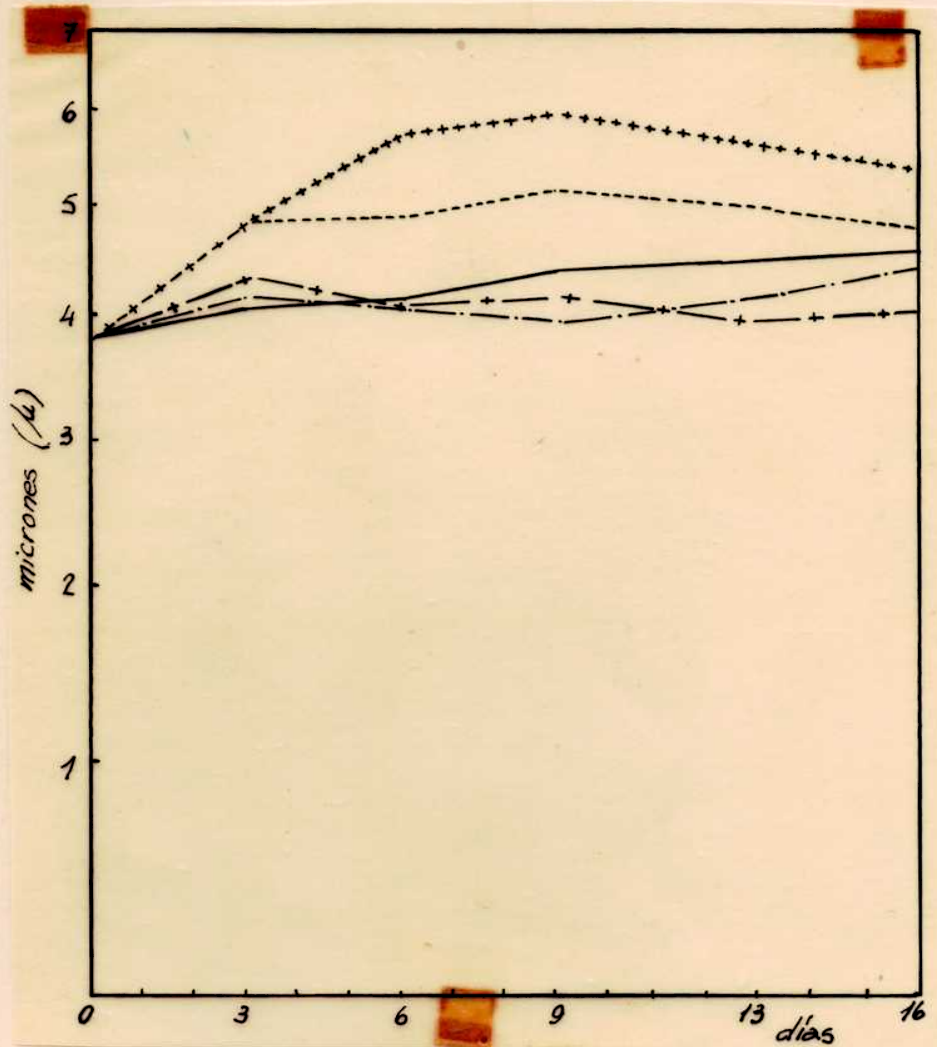
Referencias:

- patrón
- - - 10 ppm AG
- + + + + 20 ppm AG
- - - 30 ppm AG
- + - 40 ppm AG

EFFECTOS DEL AG SOBRE EL TAMAÑO CELULAR DE S. OBLIQUUS

Valores correspondientes al 15% de las células, medidas a partir de las mayores.

-Gráfico 7-ANCHO CELULAR
-Apendice: Cuadro 9-



Referencias:

- patrón
- - - - 10 ppm AG
- + + + + 20 ppm AG
- 30 ppm AG
- + - + 40 ppm AG

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 (Apéndice: Cuadro 10)

AG ppm	D I A S				
	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 > ++	4,73 > ++
30	0,83 < ++	0,19 > -	0,62 < +	0,16 > -	0,32 < -
40	0,33 < ++	1,09 < ++	2,59 < ++	0,76 < +	0,62 < -

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.

B- Ancho celular (Apéndice: Cuadro 11)

AG ppm	D I A S				
	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 < ++	0,13 < -
40	0,26 > +	0,07 < -	0,25 < +	0,53 < ++	0,53 < ++

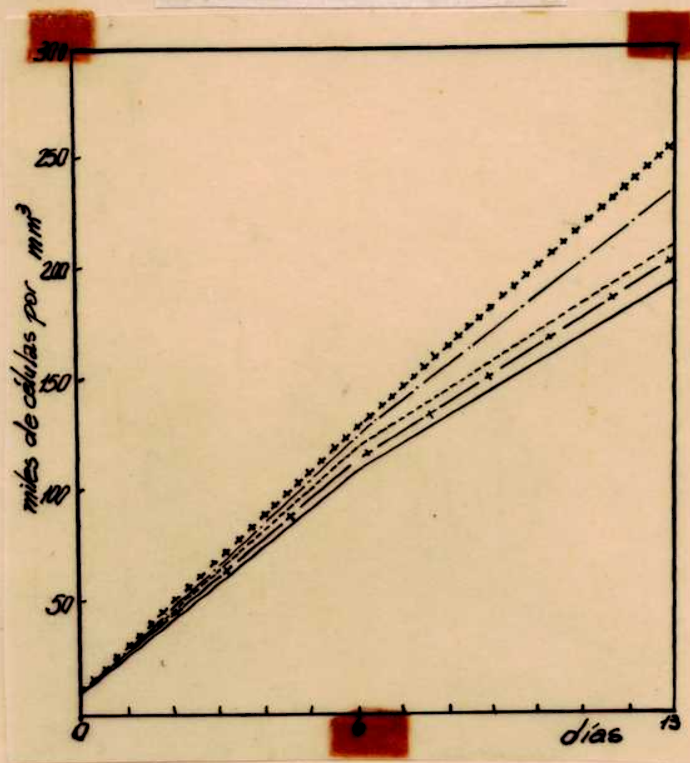
EFFECTOS REMANENTES DEL AG

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 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 12, 13 y 14 y en los cuadros correspondientes al análisis estadístico de los mismos.

EFFECTOS REMANENTES DEL AG SOBRE S. OBLIQUUS

-Gráfico 8-POBLACION
-Apéndice: Cuadro 12-

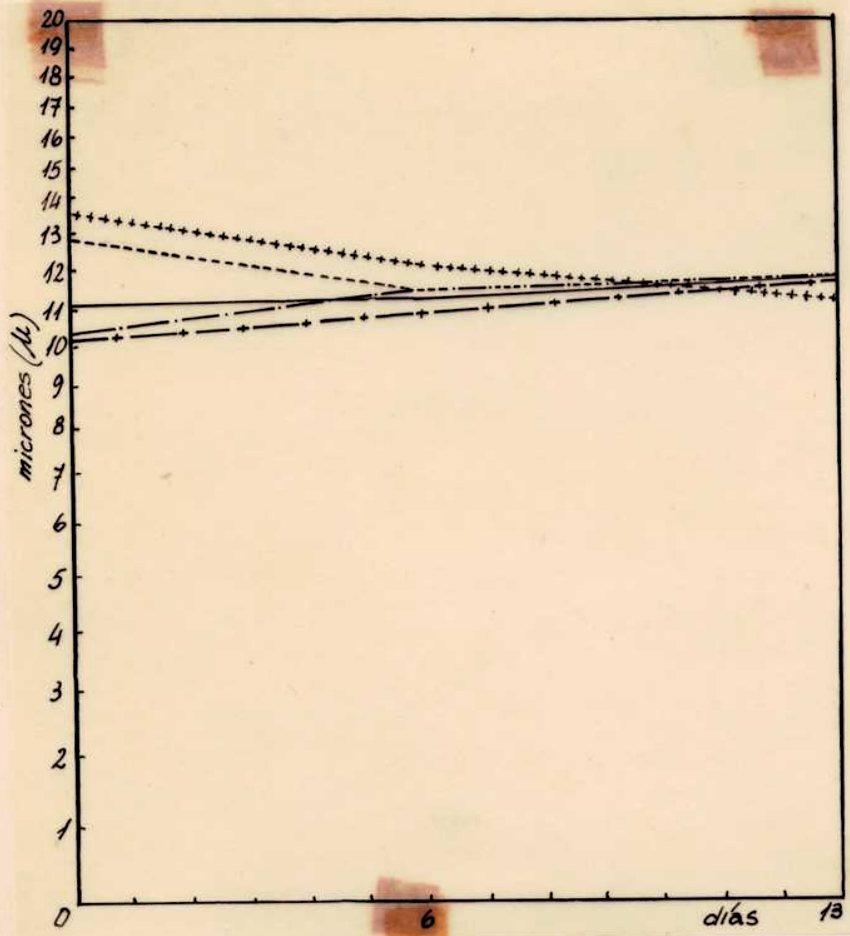


Referencias:

- patrón
- - - 10 ppm AG
- ++++ 20 ppm AG
- - - 30 ppm AG
- + - 40 ppm AG

EFFECTOS REMANENTES DEL AG SOBRE S. OBLIQUUS

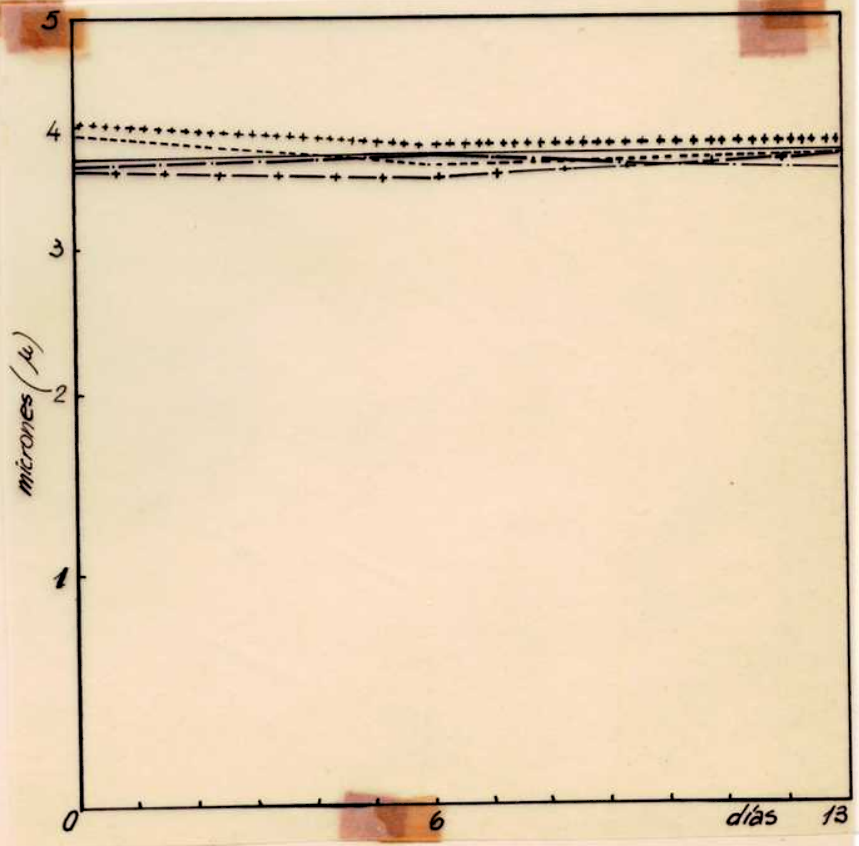
-Gráfico 9-LARGO CELULAR
-Apendice:Cuadro 13-



Referencias:

- patrón
- - - 10 ppm AG
- + + + + 20 ppm AG
- - - 30 ppm AG
- + - 40 ppm AG

-Gráfico 10-ANCHO CELULAR
-Apendice:Cuadro 14-



Análisis estadístico de los resultados

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

-SIGNIFICANCIA DE LAS DIFERENCIAS-

A- Largo celular (Apéndice: Cuadro 15)

AG ppm	Diferencias de los tratamientos respecto al patrón	
	D I A S	
	6	13
10	> 0,20 —	> 0,06 —
20	> 1,04 ++	< 0,38 —
30	> 0,23 —	> 0,07 —
40	< 0,32 —	< 0,08 —

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.

B- Ancho celular (Apéndice: Cuadro 16)

AG ppm	Diferencias de los tratamientos respecto al patrón	
	D I A S	
	6	13
10	< 0,04 —	= 0,00 —
20	> 0,11 —	> 0,17 ++
30	= 0,00 —	< 0,09 —
40	< 0,16 ++	< 0,01 —

Discusión de los resultados

En las condiciones expuestas, el AG estimula el crecimiento de Sca-nedesmus 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 ésta 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 al 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 inhibitoras, lo cual será tema de estudio en próximos ensayos.

Otro aspecto interesante 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 e resulta inocuo a bajas concentraciones. El AG, en cambio, estimula el crecimiento, con un óptimo en la concentración de 20 ppm. De éstos 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 ó 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 Prof. Ing. Agr. Don Enrique M. Sívori, quien asumió la dirección del mismo.



Ing. Agr. E. M. Sívori



Lic. J. Accorinti

BIBLIOGRAFIA

- Accorinti, J. (1957: inédito) Cultivo unialgal y masivo de Scenedesmus obliquus T. Ktz. Técnicas de obtención.
- 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.
- Brannon, M.A. and Bartsch, A.F. 1939. Influence of growth substances on growth and cell division in green algae. *Am. Jour. Bot.* 26, n°5: 271-279.
- Brian, F.W. and Hemming, H.G. 1957. A relation between the effects of gibberellic acid and indolylacetic acid on plant cell extension. *Nature* 179: 417.
- Brian, F.W. and Hemming, H.G. 1958. Complementary action of gibberellic acid and auxins in pea internodes extension. *Ann. Bot. N.S.* 22: 1-17.
- Brian, F.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.
- Kato, Y. 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, H.L. 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 pp.
- van Overbeek, J. 1959. Auxins. *Bot. Rev.* 25, n°2: 269-350.
- van Overbeek, J. 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. 1953. 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 tissues. Science 126: 701.
- Stowe, B.B. and Yasaki, 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.

TABLAS DE VALORES

Se registran las variaciones del tamaño celular,
obtenidas durante el ensayo con A6.

Variaciones del tamaño celular

Valores iniciales de las células al efectuarse la siembra.

Medidas expresadas en micrones y frecuencias (F) correspondientes al largo y ancho celular.*

Largo	F	Ancho	F
8,6125	4	3,4450	60
9,6460	4	3,7895	32
9,9905	8	4,1340	8
10,3350	44		
10,6795	20		
11,0240	4		
13,7800	16		
	100		100

Valores promedios (en micrones) del largo y ancho celular al efectuarse la siembra:

Largo	Ancho
10,8580	3,6100

* Los valores registrados, son el resultado de promedios aritméticos, llevados hasta $0,0001 \mu$. Los mismos ya se simplifican cuando se obtienen los valores correspondientes a las medias, donde se toman $0,01 \mu$. La apreciación visual del operador fué de aproximadamente $0,1 \mu$.

Variaciones del tamaño celular

Resultados del día 3

Valores parciales (expresados en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al largo de las células.

Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
6,8900	4	10,3350	16	10,3350	12	9,6460	4	7,5790	4
8,6125	12	10,6795	12	10,6715	8	9,9905	4	9,9905	8
10,3350	20	12,0575	8	11,0240	8	10,3350	32	10,3350	36
10,6795	24	12,7465	4	11,3685	4	10,6795	20	10,6795	16
12,0575	20	13,0910	8	12,0575	4	11,3685	8	11,0240	8
13,7800	16	13,7800	32	13,7800	40	12,0575	8	11,7130	4
17,2250	4	14,1245	12	14,1245	4	12,4020	4	12,7465	8
		14,4690	4	16,5360	4	13,7800	16	13,7800	12
		17,2250	4	17,2250	12	14,1245	4	14,1245	4
				20,6700	4				
	100		100		100		100		100

Resultados del día 3:

Valores parciales (expresados en micrones) y frecuencias (F) correspondientes al ancho de las células.

Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
3,4450	52	3,4450	32	3,4450	24	3,4450	48	3,4450	48
3,7895	36	3,7895	24	3,7895	32	3,7895	28	3,7895	24
4,1340	12	4,1340	36	4,1340	40	4,1340	24	4,1340	20
		5,1675	4	6,8900	4			4,4785	8
		5,8565	4						
	100		100		100		100		100

Resultados del día 6

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al largo de las células.

Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
6,8900	8	8,6125	4	8,6125	4	8,6125	4	6,8900	8
8,6125	4	10,3350	12	10,3350	16	9,6460	4	8,6125	4
10,3350	24	10,6795	12	10,6795	8	9,9905	8	9,6460	4
10,6795	12	11,0240	4	11,0240	4	10,3350	24	9,9905	4
11,0240	8	11,3685	4	12,0575	4	10,6795	16	10,3350	36
11,3685	8	12,0575	12	13,0910	4	11,0240	4	10,6795	16
13,7800	4	12,7465	4	13,7800	20	11,7130	4	11,0240	4
13,7800	20	13,0910	4	14,1245	12	12,0575	4	11,3685	4
14,1245	4	13,7800	24	14,4690	4	12,7465	4	13,4355	8
15,5025	4	14,4690	4	15,5025	8	13,4355	4	13,7800	8
15,8470	4	14,1245	4	17,2250	8	13,7800	16	14,1245	4
		16,5360	4	18,9420	4	15,5025	4		
		17,2250	8	20,6700	4	16,8805	4		
	100		100		100		100		100

Resultados del día 6

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al ancho de las células.

Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
3,4450	36	3,4450	16	3,4450	16	3,4450	36	3,4450	60
3,7895	24	3,7895	20	3,7895	32	3,7895	52	3,7895	32
4,1340	40	4,1340	40	4,1340	32	4,1340	12	4,1340	4
		4,4785	12	4,4785	8			4,4785	4
		4,8230	4	5,1675	4				
		5,1675	8	6,2010	4				
				6,8900	4				
	100		100		100	,	100		100

Resultados del día 9

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al largo de las células.

Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppn AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
6,8900	4	9,6460	4	8,6125	4	7,2345	4	6,8900	8
8,6125	4	10,3350	36	10,3350	12	7,5790	4	7,9235	4
9,6460	4	12,0575	8	10,6795	8	8,6125	8	8,6125	4
9,9905	4	13,0910	4	11,0240	12	9,9905	12	9,9905	8
10,3350	36	13,7800	20	11,3685	4	10,3350	24	10,6795	48
11,0240	12	14,1245	4	12,0575	8	10,6795	8	10,6795	4
12,4020	12	16,5360	20	13,7800	20	11,0240	8	11,0240	4
13,0910	8	17,2250	4	14,4690	12	11,3685	4	11,3685	4
15,5025	16			16,5360	4	11,7130	4	11,7130	4
				18,9420	8	12,4020	4	12,0575	4
				20,6700	8	13,0910	4	13,7800	8
						13,7800	4		
						14,1245	4		
						15,5025	4		
						15,8470	4		
	100		100		100		100		100

Resultados del día 9

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al ancho de las células.

Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
3,4450	40	3,4450	28	3,4450	32	3,4450	52	3,4450	64
3,7895	32	3,7895	24	3,7895	28	3,7895	40	3,7895	24
4,1340	16	4,1340	28	4,1340	20	4,1340	8	4,1340	8
4,4785	12	5,1675	16	4,4785	8			4,4785	4
		5,5120	4	6,2010	8				
				6,8900	4				
	100		100		100		100		100

Resultados del día 13

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al largo de las células.

Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
7,5790	4	10,3350	32	8,6125	4	7,2345	8	6,8900	12
8,9570	8	10,6795	8	8,9570	4	7,5790	8	10,3350	16
9,6460	8	11,0240	8	10,3350	12	8,6125	12	10,6795	36
10,3350	28	12,0575	4	10,6795	20	10,3350	20	11,0240	8
10,6795	8	12,7465	4	11,3685	8	10,6795	12	11,3685	4
11,0240	12	13,7800	8	12,0575	4	11,0240	12	11,7130	4
12,4020	12	15,1580	8	13,7800	4	11,3685	8	12,0575	8
13,0910	12	15,5025	8	14,1245	4	11,7130	4	13,7800	4
14,8135	8	16,5360	12	14,4690	8	12,0575	4	14,1245	4
15,1580	4	17,2250	8	16,5360	8	13,7800	4	14,8135	4
				17,2250	8	15,8470	4		
				17,5895	8	16,5360	4		
				20,6700	8				
	100		100		100		100		100

Resultados del día 13

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al ancho de las células.

Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
3,4450	44	3,4450	32	3,4450	24	3,4450	48	3,4450	52
3,7895	32	3,7895	20	3,7895	36	3,7895	40	3,7895	40
4,1340	12	4,1340	20	4,1340	28	4,1340	8	4,1340	8
4,4785	8	4,4785	12	4,4785	4	4,4785	4		
4,8230	4	4,8230	8	6,8900	8				
		5,1675	8						
	100		100		100		100		100

Resultados del día 16

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al largo de las células.

Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
8,6125	8	8,6125	4	8,6125	4	7,2345	8	6,8900	16
9,6460	8	10,3350	36	10,3350	12	7,5790	8	7,2345	12
10,3350	32	10,6795	4	10,6795	12	7,9235	4	10,3350	12
10,6795	24	11,3685	4	11,0240	12	8,2680	4	10,6795	28
11,0240	4	12,4020	4	11,7130	8	8,6125	8	11,0240	8
12,0575	4	13,4355	4	13,7800	8	8,9570	4	11,3685	4
13,7800	8	13,7800	8	14,1245	8	10,3350	16	11,7130	4
14,1245	8	14,2450	12	14,4690	4	10,6795	12	12,0575	4
14,8135	4	16,5360	12	15,5025	4	11,0240	4	13,7800	4
15,1580	4	16,8805	12	16,8805	4	11,3685	8	14,1245	4
				17,2250	8	12,0575	4	15,1580	4
				17,5895	8	13,0910	8		
				20,6700	8	13,7800	4		
						14,1245	4		
						15,5025	4		
	100		100		100		100		100

Resultados del día 16

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al ancho de las células.

Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
3,4450	56	3,4450	36	3,4450	28	3,4450	60	3,4450	64
3,7895	28	3,7895	28	3,7895	32	3,7895	20	3,7895	28
4,1340	4	4,1340	16	4,1340	20	4,1340	12	4,1340	4
4,4785	8	4,4785	12	4,4785	12	4,4785	4	4,4785	4
5,1675	4	5,1675	8	5,5120	4	4,8230	4		
				6,8900	4				
	100		100		100		100		100

Variaciones del tamaño celular

Resultados correspondientes al día 6

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al largo de las células.

P R O C E D E N C I A									
Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
9,6460	8	9,9050	8	9,6460	4	9,9905	4	9,3015	4
9,9905	12	10,3350	44	9,9905	4	10,3350	44	9,6460	8
10,3350	40	10,6795	16	10,3350	28	10,6795	16	9,9905	8
10,6795	12	11,0240	8	10,6795	16	11,0240	8	10,3350	40
11,0240	4	11,3685	4	11,0240	4	11,3685	8	10,6795	16
11,3685	8	13,7800	8	12,0575	8	13,0910	4	11,0240	4
13,7800	8	14,1245	4	12,7475	4	13,7800	8	11,3685	4
17,2250	8	16,8805	4	13,7800	8	17,2250	8	13,0910	4
		17,2250	4	14,1245	8			13,7800	4
				16,5360	4			14,1240	4
				17,2250	12			14,4690	4
	100		100		100		100		100

Resultados correspondientes al día 6

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al ancho de las células.

P R O C E D E N C I A									
Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
3,4450	44	3,4450	52	3,4450	36	3,4450	52	3,4450	68
3,7895	36	3,7895	32	3,7895	40	3,7895	28	3,7895	28
4,1340	12	4,1340	8	4,1340	8	4,1340	8	4,1340	4
4,4785	8	4,4785	8	4,4785	8	4,4785	8		
				4,8230	4	4,8230	4		
				5,1673	4				
	100		100		100		100		100

Resultados correspondientes al día 13

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al largo de las células.

P R O C E D E N C I A									
Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
9,6460	8	9,6460	4	9,9905	4	9,6460	4	10,3350	32
9,9905	8	9,9905	4	10,3350	24	9,9905	8	10,6795	16
10,3350	20	10,3350	36	10,6795	12	10,3350	20	11,0240	12
10,6795	8	10,6795	16	11,0240	12	10,6795	4	11,3685	8
11,0240	8	11,0240	4	11,3685	16	11,0240	24	12,0910	4
11,3685	24	11,3685	4	12,0575	4	11,3685	12	13,4355	8
13,4355	4	13,0910	4	13,0910	4	13,0910	8	13,7800	12
13,7800	4	13,4355	4	13,4355	4	13,7800	8	14,1245	8
14,1245	4	13,7800	16	13,7800	4	14,1245	4		
14,4690	4	17,2250	4	14,1245	4	16,8805	4		
17,2250	8	17,5895	4	16,5360	4	17,5895	4		
				17,5895	4				
	100		100		100		100		100

Resultados correspondientes al día 13

Valores parciales (en micrones) y frecuencias (F), correspondientes al ancho de las células.

P R O C E D E N C I A									
Patrón	F	10 ppm AG.	F	20 ppm AG.	F	30 ppm AG.	F	40 ppm AG.	F
3,4450	40	3,4450	48	3,4450	28	3,4450	60	3,4450	44
3,7895	40	3,7895	28	3,7895	32	3,7895	32	3,7895	36
4,1340	16	4,1340	16	4,1340	28	4,1340	4	4,1340	16
4,4785	4	4,4785	8	4,4785	8	4,8230	4	4,4785	4
				5,1675	4				
	100		100		100		100		100

APR 1951

Cuadro 1.- Efectos del AIA sobre el crecimiento de S.obliquus.-

Los valores representan el nº de células por mm³.

Días AIA ppm	Siembra	1	2	3	4	5
0 (patrón)	10.000	48.625	161.250	390.000	605.250	1.012.500
10	10.000	37.250	131.000	336.500	385.625	366.750
30	10.000	33.625	106.625	253.850	346.250	272.750
50	10.000	42.375	120.625	221.000	326.500	235.000
70	10.000	44.250	98.000	163.750	259.125	226.375
90	10.000	30.500	98.125	129.625	223.375	153.000

Promedios de 24 recuentos.

Cuadro 2.- Efectos del AIA sobre el crecimiento de S.obliquus.-

Los valores representan en nº de células por mm³.

Días AIA ppm	Siembra	1	2	4	6
0 (patrón)	10.000	49.666	121.666	440.333	934.000
0,5	10.000	51.666	97.666	368.666	822.000
1	10.000	43.666	80.000	406.333	791.666
5	10.000	40.000	71.333	450.333	1.006.000

Promedios de 24 recuentos.

Cuadro 3.- Efectos del AG sobre la población de *S.obliquus*.-

Los valores representan el nº de células por mm³.

AG / Días ppm	Siembra	3	6	9	13	16
0 (patrón)	10.000	210.953	613.136	832.337	1.090.337	1.127.976
10	10.000	194.174	765.662	953.531	1.099.531	1.156.394
20	10.000	167.232	832.976	1.082.093	1.276.651	1.247.923
30	10.000	125.697	535.531	621.923	306.651	317.564
40	10.000	143.136	572.744	655.313	735.333	733.403

Promedios de 32 recuentos.

Cuadro 4.- Efectos del AG sobre el tamaño celular de *S.obliquus*.-

Los valores representan las variaciones del largo de las células.

AG / Días ppm	Siembra		3		6		9		13		16	
	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
0 (patrón)	10,36	1,3	11,24	2,1	11,56	2	11,47	2,7	11,33	2,7	11,12	1,7
10	10,36	1,3	12,33	2,2	12,73	2,1	12,91	2,5	12,95	2,6	12,30	2,6
20	10,36	1,3	13,54	2,6	13,53	2,1	13,50	3,3	13,51	3,5	13,67	3,3
30	10,36	1,3	11,37	1,3	11,66	1,5	11,01	2,1	10,60	2,2	10,43	2,2
40	10,36	1,3	11,12	1,5	10,75	1,7	10,51	1,6	10,44	3,3	10,21	2,3

Medidas expresadas en micrones. Promedios totales (100 mediciones)

σ : media
σ : error standard

Cuadro 5.- Efectos del AG sobre el tamaño celular de S.obliquus.-

Los valores representan las variaciones del ancho de las células.

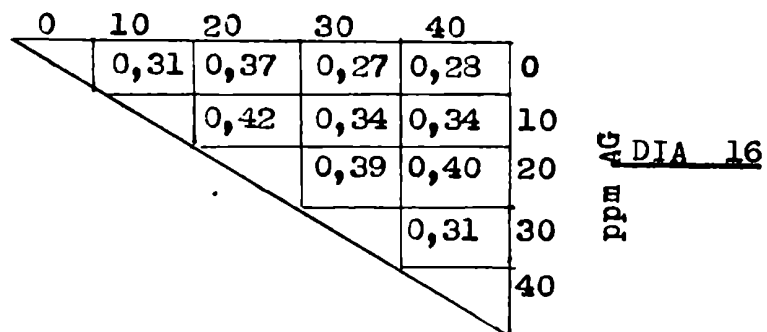
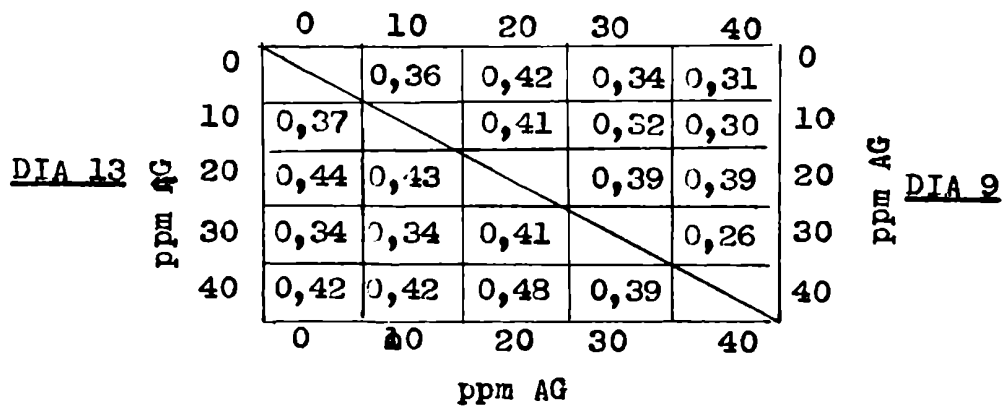
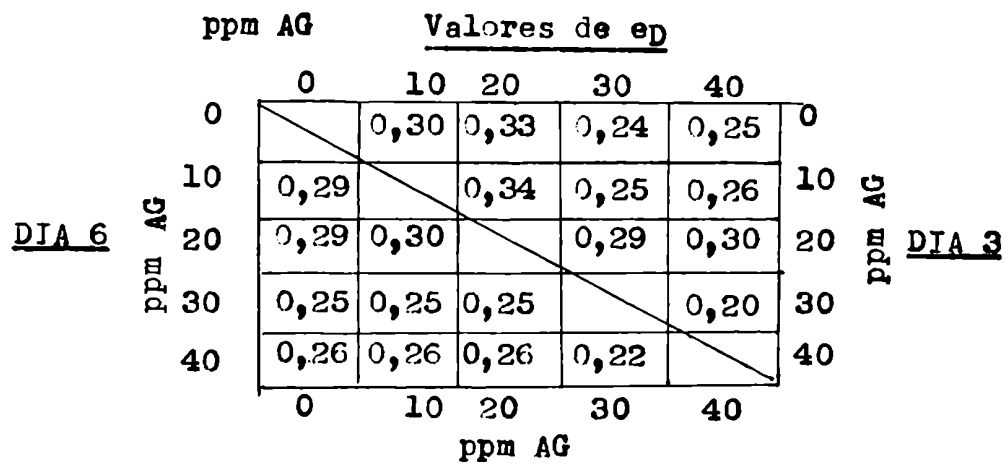
Días pm	Siembra		3		6		9		13		16	
	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
0 (patrón)	3,61	0,22	3,65	0,26	3,80	0,32	3,79	0,45	3,77	0,53	3,72	0,43
10	3,61	0,22	3,94	0,56	4,10	0,50	4,08	0,63	4,02	0,57	3,91	0,52
20	3,61	0,22	3,97	0,70	4,17	0,80	4,12	0,90	4,08	0,87	4,03	0,78
30	3,61	0,22	3,71	0,34	3,70	0,31	3,64	0,31	3,68	0,26	3,69	0,40
40	3,61	0,22	3,75	0,32	3,62	0,31	3,62	0,33	3,64	0,17	3,61	0,26

medidas expresadas en micrones. Promedios totales (100 mediciones)

media
error standard

Cuadro 6.- Valores de la desviación standard (σ), de la desviación típica de la media (σ_x) y de la desviación típica de la diferencia entre las medias (e_p), correspondientes a los promedios totales del largo celular de S. obliquus, obtenidos en el tratamiento con AG.-

AG ppm \ Días	3		6		9		13		16	
	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x
0 (patrón)	2,1	0,21	2,0	0,20	2,7	0,27	2,7	0,27	1,7	0,17
10	2,2	0,22	2,1	0,21	2,5	0,25	2,6	0,26	2,6	0,26
20	2,6	0,26	2,1	0,21	3,3	0,33	3,5	0,35	3,3	0,33
30	1,3	0,13	1,5	0,15	2,1	0,21	2,2	0,22	2,2	0,22
40	1,5	0,15	1,7	0,17	1,6	0,16	3,3	0,33	2,3	0,23



Cuadro 7.- Valores de la desviación standard (σ), de la desviación típica de la media (σ_x) y de la desviación típica de la diferencia entre las medias (e_D), correspondientes a los promedios totales del ancho celular de S. obliquus, obtenidos en el tratamiento con AG.-

AG ppm \ Días	3		6		9		13		16	
	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x
0 (patrón)	0,26	0,026	0,32	0,032	0,45	0,045	0,53	0,053	0,43	0,043
10	0,56	0,056	0,50	0,050	0,63	0,063	0,57	0,057	0,52	0,052
20	0,70	0,070	0,30	0,030	0,30	0,030	0,37	0,037	0,73	0,073
30	0,34	0,034	0,31	0,031	0,31	0,031	0,26	0,026	0,40	0,040
40	0,32	0,032	0,31	0,031	0,33	0,033	0,17	0,017	0,26	0,026

Valores de e_D

ppm AG		ppm AG					ppm AG	
		0	10	20	30	40		
DIA 6	0	0,061	0,074	0,042	0,041	0	DIA 3	0
	10	0,067	0,039	0,064	0,064	10		10
	20	0,036	0,094	0,077	0,076	20		20
	30	0,043	0,053	0,084	0,045	30		30
	40	0,043	0,053	0,034	0,042	40		40
		0	10	20	30	40		

ppm AG		ppm AG					ppm AG	
		0	10	20	30	40		
DIA 13	0	0,076	0,107	0,053	0,055	0	DIA 9	0
	10	0,077	0,109	0,069	0,070	10		10
	20	0,101	0,103	0,094	0,095	20		20
	30	0,053	0,061	0,090	0,044	30		30
	40	0,054	0,058	0,037	0,023	40		40
		0	10	20	30	40		

ppm AG		ppm AG					ppm AG	
		0	10	20	30	40		
DIA 16	0	0,067	0,033	0,053	0,045	0	DIA 16	0
	10	0,033	0,065	0,057		10		10
	20		0,037	0,031		20		20
	30			0,046		30		30
	40					40		40
		0	10	20	30	40		

Cuadro 3.- Efectos del AG sobre el tamaño celular de *S.obliquus*.-

Los valores representan las variaciones del largo de las células, correspondientes al 15% de las mismas, medidas a partir de las mayores.-

Días ppm	Siembra		3		6		9		13		16	
	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
0 (patrón)	13,73	0,0	14,70	1,5	14,33	0,39	15,50	0,0	14,56	0,73	14,51	0,63
10	13,73	0,0	15,04	1,3	16,42	1,1	16,72	0,36	16,90	0,44	16,31	0,26
20	13,73	0,0	13,14	1,5	13,60	1,4	19,36	0,94	19,23	1,5	19,23	1,5
30	13,73	0,0	13,37	0,17	15,07	0,31	14,33	0,89	14,72	1,7	14,19	0,39
40	13,73	0,0	13,37	0,17	13,30	0,26	12,91	1,05	13,30	0,97	13,39	1,1

Medidas expresadas en micrones.

M: media.

σ: error standard

Cuadro 9.-Efectos del AG sobre el tamaño celular de *S.obliquus*.-

Los valores representan las variaciones del ancho de las células, correspondientes al 15% de las mismas, medidas a partir de las mayores.-

Días ppm	Siembra		3		6		9		13		16	
	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ	M	σ
0 (patrón)	3,97	0,26	4,06	0,26	4,13	0,0	4,41	0,36	4,50	0,26	4,59	0,4
10	3,97	0,26	4,37	0,73	4,94	0,26	5,26	0,16	5,01	0,26	4,34	0,4
20	3,97	0,26	4,37	1,2	5,77	0,94	6,04	0,36	5,70	1,2	5,40	1,0
30	3,97	0,26	4,13	0,17	4,06	0,26	3,97	0,26	4,16	0,20	4,41	0,26
40	3,97	0,26	4,32	0,26	4,06	0,36	4,16	0,26	3,97	0,26	4,06	0,5

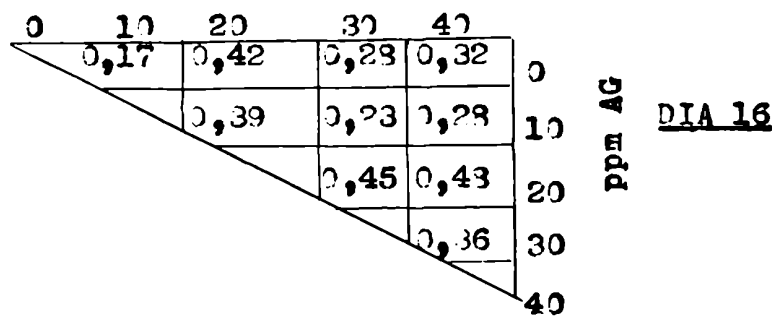
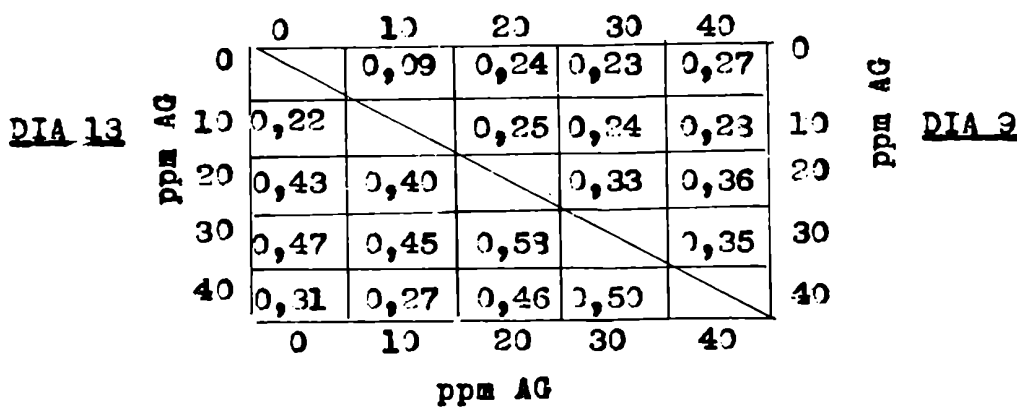
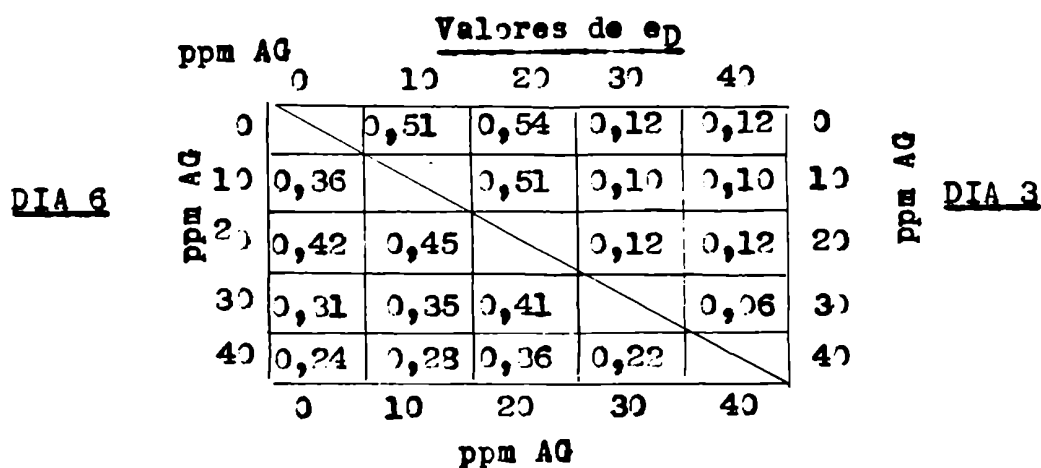
Medidas expresadas en micrones.

M: media

σ: error standard.

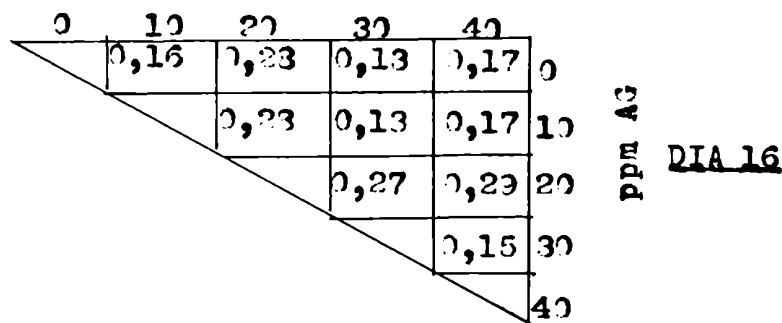
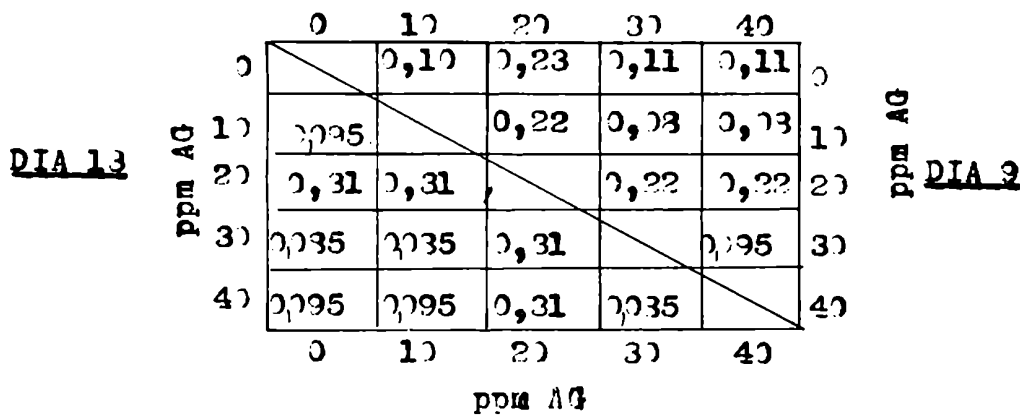
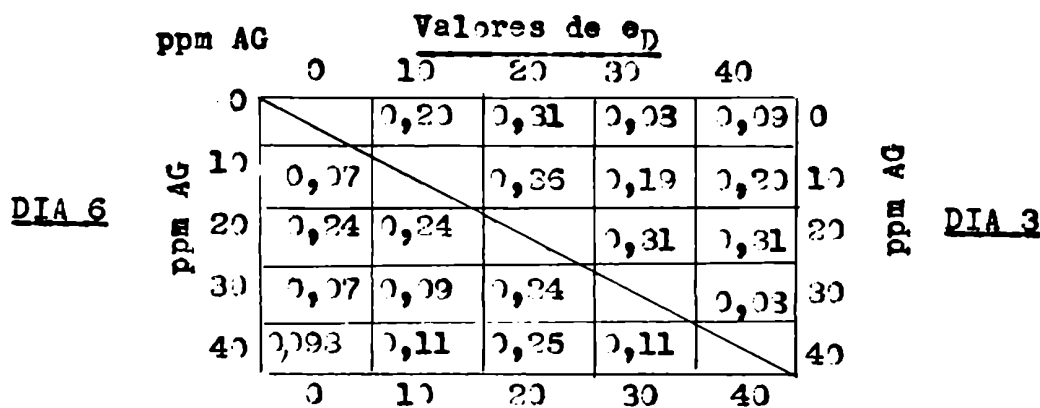
Cuadro 11.-Valores de la desviación standard(σ), de la desviación típica de la media(σ_x) y de la desviación típica de la diferencia entre las medias(e_D), de los valores del largo celular de S. obliquus, correspondientes a los promedios del 15% de las células, medidas a partir de las mayores, obtenidas en el tratamiento con AG.

AG ppm \ Días	3		6		9		13		16	
	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x
0 (patrón)	1,5	0,39	0,99	0,23	0,0	0,0	0,73	0,19	0,63	0,16
10	1,3	0,34	1,1	0,23	0,36	0,094	0,44	0,11	0,26	0,063
20	1,5	0,39	1,4	0,36	0,94	0,24	1,5	0,39	1,5	0,39
30	0,17	0,44	0,91	0,21	0,39	0,23	1,7	0,44	0,39	0,23
40	0,17	0,44	0,26	0,063	1,05	0,27	0,97	0,25	1,1	0,23



Cuadro 11.-Valores de la desviación standard (σ), de la desviación típica de la media (σ_x) y de la desviación típica de la diferencia entre las medias (σ_D), de los valores del ancho celular de *S. obliquus*, correspondientes a los promedios del 15% de las células, medidas a partir de las mayores, obtenidas en el tratamiento con AG.

AG ppm	Días 3		6		9		13		16	
	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x
(patrón)	0,26	0,063	0,1	0,0	0,36	0,094	0,26	0,063	0,44	0,11
10	0,73	0,19	0,26	0,063	0,16	0,042	0,26	0,063	0,44	0,11
20	1,2	0,31	0,94	0,24	0,36	0,22	1,2	0,31	1,0	0,26
30	0,17	0,044	0,26	0,063	0,26	0,063	0,20	0,052	0,26	0,063
40	0,26	0,063	0,36	0,094	0,26	0,063	0,26	0,063	0,50	0,13



Cuadro 12.- Efectos remanentes del AG sobre el crecimiento de S. obliquus.-

Los valores representan el nº de células por mm³.

PROCEDENCIA ppm AG	D I A S		
	Siembra	6	13
0 (patrón)	10.000	109.300	195.000
10	10.000	118.044	210.053
20	10.000	126.798	256.010
30	10.000	125.053	230.425
40	10.000	112.579	207.090

Promedios de 30 recuentos.

Cuadro 13.- Efectos remanentes del tratamiento con AG, sobre las variaciones del tamaño celular de S. obliquus.-

Los valores representan los efectos remanentes del AG sobre el largo de las células.-

AG ppm Procedencia	Días		6		13	
	Siembra		M	σ	M	σ
0 (Patrón)	11,12	1,7	11,22	2,2	11,71	2,1
10	12,80	2,6	11,42	2,0	11,77	2,2
20	13,67	3,3	12,26	2,4	11,33	3,0
30	10,43	2,2	11,45	2,0	11,78	2,0
40	10,21	2,3	10,90	1,3	11,63	1,4

Medidas expresadas en micrones. Promedios de 100, mediciones.-

M: media

σ: error standard

Cuadro 14.- Efectos remanentes del tratamiento con AG, sobre las variaciones del tamaño celular de S. obliquus.-
 Los valores representan los efectos remanentes del AG sobre el ancho de las células.-

AG ppm Procedencia	Días		6		13	
	M	σ	M	σ	M	σ
0 (patrón)	3,72	0,43	3,73	0,37	3,76	0,33
10	3,91	0,52	3,69	0,34	3,73	0,38
20	4,03	0,78	3,84	0,50	3,90	0,41
30	3,69	0,40	3,73	0,40	3,64	0,38
40	3,61	0,26	3,57	0,15	3,72	0,30

M: media
 σ : error stand.

Medidas expresadas en micrones. Promedios de 100 mediciones.-

Cuadro 15.- Valores de la desviación standard (σ), de la desviación típica de la media (σ_x) y de la desviación típica de la diferencia entre las media (e_D), de los valores del largo celular, provenientes del efecto remanente del AG sobre S. obliquus.-

AG ppm Procedencia	Días		6		13	
	σ	σ_x	σ	σ_x	σ	σ_x
0 (patrón)	2,2	0,22	2,1	0,21	2,1	0,21
10	2	0,20	2,2	0,22	2,2	0,22
20	2,4	0,24	3	0,30	3	0,30
30	2	0,20	2	0,20	2	0,20
40	1,3	0,13	1,4	0,14	1,4	0,14

DIA 13		ppm AG					DIA 6	
		0	10	20	30	40		
ppm AG	0	0	0,29	0,32	0,29	0,25	0	
	10	0,30		0,31	0,28	0,24	10	
	20	0,37	0,37		0,31	0,27	20	
	30	0,29	0,30	0,36		0,24	30	
	40	0,25	0,26	0,33	0,24		40	
		0	10	20	30	40	ppm AG	

Valores de e_D

Cuadro 16.- Valores de la desviación standard (σ), de la desviación típica de la media ($\sigma_{\bar{x}}$) y de la desviación típica de la diferencia entre las medias (e_D), de los valores del ancho celular, provenientes del efecto repante del AG sobre S. obliquus.-

AG ppm Procedencia	6		13	
	σ	$\sigma_{\bar{x}}$	σ	$\sigma_{\bar{x}}$
0 (patrón)	0,37	0,037	0,33	0,033
10	0,34	0,034	0,33	0,033
20	0,50	0,050	0,41	0,041
30	0,40	0,040	0,33	0,033
40	0,15	0,015	0,30	0,030

