

Niveles de giberelinas endógenas y elementos minerales durante la transición floral en plátano (*Musa AAB*) cv Hartón

Endogenous gibberellin levels and mineral nutrients during the floral transition of plantain (*Musa AAB*) cv Hartón

Y. Hernandez, N. Villa, G. Fournul, J. De La Cruz

Laboratorio de Biotecnología. Universidad Nacional Experimental Sur del Lago (UNESUR).

Resumen

Con el propósito de determinar los niveles giberelinas endógenas y otros elementos minerales durante la transición floral en plátano *Musa AAB* cv Hartón, se realizó un ensayo en el Centro Internacional del Plátano (CIPLAT) ubicado en LN: 8°51'50"y LE: 71°35'24". Para ello se tomaron muestras foliares y de cormos que contenían la zona meristemática de plantas que presentaban 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 ó 36 hojas emitidas. Una porción de las muestras de cormos se almacenó en nitrógeno líquido para la determinación de ácido giberélico por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). La otra porción, se utilizó para la determinación de elementos minerales al igual que las muestras foliares. La transición floral en plátano Hartón pudo observarse en la emisión de la hoja 27, pudiéndose iniciarse un poco antes, determinándose la GA₃ como la giberelina asociada con el alargamiento del tallo. Los valores más bajos de los elementos minerales en general, se encontraron entre las hojas 21 y 27, siendo el Mg²⁺, Ca²⁺ y K⁺ los que mostraron alguna relación con los contenidos de las GA₃ detectadas en los cormos, pudiendo tener los elementos un papel importante en la regulación del crecimiento del verdadero tallo y en la transición floral en plátano.

Palabras clave: plátano, transición floral, giberelinas, elementos minerales.

Abstract

For the purpose of determining the levels of endogenous gibberellins and mineral nutrients during the floral transition of plantain, *Musa AAB* cv Horn, an experiment was carried out at the International Center of Plantain (CIPLAT) 8°51'50" 71°35'24"W. Leaf and corms with meristematic zone were sampled when plants had developed the 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 or 36th leaf. A portion of the

corm's samples were stored in liquid nitrogen for the gibberellins analysis by HPLC, and the other portion, and leaf samples were processed for mineral nutrient analysis. The floral transition in plantain was observed at leaf emission 27th, being the GA₃ the prevalent gibberellin vary with the stem elongation and floral transition. The lowest values levels in the mineral nutrients, place at the 21 and 27th, leaf emission, being Mg²⁺, Ca²⁺ and K⁺ the minerals showed some relationship with GA₃ contained in corms. These minerals might play an important role on stem growth and floral transition in plantain.

Key words: plantain, gibberellic acid, floral transition, mineral nutrients.

Introducción

La transición floral en plátano comienza como resultado de la transformación del ápice vegetativo que está localizado en el centro de la superficie del cormo o tallo subterráneo (Bijú y Kurien, 1994). Esto marca el inicio del crecimiento de este tallo verdadero, que después de permanecer al ras del suelo, comienza a atravesar el centro del pseudotallo hacia la parte superior de la planta, convirtiéndose de esta forma en un tallo aéreo (Belalcazar, 1994).

En Musáceas, se ha demostrado a través de estudios a nivel microscópico, que la inflorescencia inicia su desarrollo cuando la planta ha emitido el 50% del total de las 38±2 hojas que produce a través de su ciclo vegetativo (ICA, 1991 y Belalcázar, 1994). Sin embargo, la transición floral no se manifiesta en plátano por algún índice visible, por lo cual los estudios de inducción floral en este cultivo presentan grandes dificultades.

La transición floral está regulada por la interacción de los factores endógenos de la planta con el ambiente que la rodea, permitiendo que la floración ocurra al haber suficientes recursos internos acumulados y las condiciones ambientales sean las más fa-

Introduction

The floral transition in plantain starts as a result of the transformation of the vegetative apex located in the center of the corm's surface or underground stem (Bijú and Kurien, 1994). This shows the beginning of the growth of this truly stem, that after remaining on the floor starts going through the center of the pseudo-stem towards the superior part of the plant, thus becoming in an aerial stem (Belalcazar, 1994).

In Musacea, have been proved in microscopic researches, that inflorescence initiates its development when the plants has emitted 50% of the total of 38 ± 2 leaves that produce during the vegetative cycle (ICA, 1991 and Belalcázar, 1994). However, the floral transition is not identified in plantain for any visible index, therefore, the researches of floral induction in this crop present great difficulties.

The floral transition is ruled by the interaction of endogenous factors of the plant with the environment that surrounds it, allowing that flowering happens when there are enough internal resources accumulated and the environmental conditions are the

vorables (Simpson *et al.*, 1999; Ohto *et al.*, 2001).

Una de las rutas de inducción de la floración es la promoción autónoma causada por las hormonas Giberelinas (GAs) (Simpson *et al.*; 1999). Estas hormonas además de tener un papel importante en la floración, determinan la altura de las plantas y en general participan en todas las fases del ciclo de vida de una planta (Olszewski *et al.*, 2002). Asimismo, las GAs junto con las auxinas, son responsables del fenómeno de partenocarpia presente en muchas especies de interés comercial como el tomate (Van Heusden y Lindhout, 2004) y pera (Ozga y Reinecke, 2003). Las GAs también pueden incrementar la tendencia en la formación de flores masculinas en cucurbitáceas (Chailakhyan y Khryanin, 1980).

En musáceas, las GAs se han estudiado en procesos fisiológicos como la formación y maduración del fruto (Mishra, *et al.*, 1981) y en el desarrollo de hijuelos laterales (Swennen *et al.*, 1984), no conociéndose las variaciones en los niveles endógenos de estas hormonas en estado vegetativo ni reproductivo.

En los últimos años se ha intentado identificar los elementos que componen la cadena de transducción de señales en respuesta a las GAs en las plantas (Stephen y Tai-ping, 2004), encontrándose que el calcio (Ca^{2+}) actúa como un segundo mensajero de señales en la vía de regulación de proteínas como la calmodulina. Éste es un pequeño polipéptido que contiene 4 cationes de Ca^{2+} , el cual activa otras proteínas como la NAD kinasa, NTP kinasa, Ca-ATPasa y CDPKs entre otras.

most favorable (Simpson *et al.*, 1999; Ohto *et al.*, 2001)

One of the induction's phases to flowering is the autonomous promotion caused by the Gibberellins hormones (Gas) (Simpson *et al.*, 1999). These hormones besides of having an important role in flowering determine the height of the plants and in general, participate in all the phases of the life's cycle of a plant (Olszewski *et al.*, 2002). Likewise, GAs along to the auxins are responsible of the parthenocarp phenomenon presented in many species with commercial interest such as tomato (Van Heusden and Lindhout, 2004) and pear (Ozga and Reinecke, 2003). GAs might also increment the tendency in the formation of masculine flowers in cucurbits (Chailakhyan and Khryanin, 1980).

In Musacea, GAs have been studied in physiological processes as in the formation and ripening of the fruit (Mishra *et al.*, 1981) and in the development of lateral holes (Swennen *et al.*, 1984), but with no information of the variations in the endogenous levels of these hormones in either the vegetative of reproductive phase.

In the last years, have been tried to identify the elements that are part of the transduction chain of signs in response to GAs in the plants (Stephen and Tai-ping, 2004), finding that calcium (Ca^{2+}) acts as a second messenger of signs in the regulation path of proteins such as calmodulins. This is a small polypeptide which contains 4 cations of Ca^{2+} , which activates other proteins such as NAD Kinase, NTP Kinase, Ca-ATPasa and CDPKs among others.

Estas enzimas, coordinan y controlan numerosos procesos energéticos de la células (Medvedev, 2005). Se ha observado que tratamientos con GA inducen el incremento de Ca^{2+} en el protoplasto de células de aleurona en semillas de cebada (*Hordeum vulgare* L.) (Gilroy y Russell, 1992), este evento desencadena a su vez la actividad de enzimas alfa y beta amilasas. Estas enzimas hidrolizan carbohidratos complejos como los almidones de reserva presentes en las semillas (Eastmond y Russell, 2005).

De forma contraria, aplicaciones exógenas de prohexadiona de calcio (P-Ca) en manzano redujeron los niveles de GAs activas en los brotes apicales (Rademacher y Kober, 2003). Otro elemento mineral asociado con las GAs en el alargamiento del tallo es el K^+ . Este actúa de forma sinérgica con las GAs, reduciendo los azúcares y ayudando a producir turgor potencial requerido para el alargamiento celular (Marschner, 1994).

En plátanos y bananos se desconoce totalmente los factores internos (hormonales) y nutricionales que disparan la floración y la similitud que este proceso pueda tener con otros modelos de floración estudiados. Es por esta razón que el presente estudio tuvo como finalidad evaluar los niveles de GA endógenas y de elementos minerales en plantas de plátano cv Hartón durante la etapa de transición floral.

Materiales y métodos

Esta evaluación se realizó en el Centro Internacional del Plátano (CIPLAT), localizado en el Sur del Lago de Maracaibo, Sector “El Tocuyo” (LN:

These enzymes coordinate and control several energetic processes of the cells (Medvedev, 2005). It has been observed that treatments with GA induce the increment of Ca^{2+} in the protoplast of aleurone cells in barley (*Hordeum vulgare* L.) (Gilroy and Russell, 1992), this event provokes at the same time the activity of alpha enzymes and amylase beta. These enzymes hydrolyze complex carbohydrates such as starch of reserve presented in seeds (Eastmond and Russell, 2005).

On the other hand, exogenous applications of prohexadione of calcium (P-Ca) in apple, reduced the levels of GAs active in the apical buds (Redemacher and Kober, 2003). Other mineral element associated to GAs is the lengthening of the stem is K^+ . It acts in a synergy way with GAs, reducing the sugar and helping to producer potential turgor required for the cellular lengthening (Marschner, 1994).

In plantains and banana, the internal (hormonal) and nutritional factor are unknown, that provoke flowering and the similarity that this process might have with other flowering models studied. For this reason, this research had as objective to evaluate the levels of endogenous GA and mineral elements in plantain plants cv Harton during the phase of floral transition.

Materials and methods

This evaluation was done at the International Center of Plantain (CIPLAT), located in the South of Maracaibo's Lake, “El Tocuyo” area

8°51'50''; LE: 71°35'24''), Municipio Francisco Javier Pulgar Estado Zulia, Venezuela (MARNR, 1996). De una plantación de aproximadamente 28 hectáreas de plátano, *Musa* AAB cv. Hartón, con dos años de edad y sembradas a una distancia de 3 x 3 m, se seleccionaron hijos puyones y plantas sanas en fase vegetativa con 7 y 11 hojas totales emitidas. Luego se esperó por la emisión foliar 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 y 36 (hojas emitidas), y se seleccionó siete (7) individuos por cada estado de emisión foliar, para un total de 63 plantas muestreadas.

Las variables evaluadas en cada planta fueron: Altura de la planta (Alt), medida desde la base del cormo hasta la inserción del pecíolo de la tercera hoja; Perímetro del pseudotallo medido a la mitad de la altura del pseudotallo y el número de hojas emitidas. A cada planta se procedió a determinar si se encontraba o no en transición floral a través de observaciones visuales y con la ayuda de una lupa estereoscópica.

Se seccionaron los cormos o tallos verdaderos en porciones de aproximadamente 20 cm de longitud, el cual contenía la zona meristemática, rodeada por las bases de los pecíolos del pseudotallo en la parte superior y en el extremo inferior conservaba con una porción de tejido de reserva. Estas muestras de cormo, fueron identificadas y cortadas longitudinalmente con un bisturí a mano alzada y en dos partes iguales, atravesando toda la zona meristemática. Una parte de las muestras se envolvió en papel aluminio y almacenó inmediatamente en un termo con nitrógeno líquido para la determinación de GAs.

(NL: 8°51'50''; EL: 71°35'24''), Francisco Javier Pulgar parish, Zulia state, Venezuela (MARNR, 1996). From a plantation with approximately 28 hectares of *Musa* AAB cv Harton two-year-old plantain and sowed at a distance from 3 x 3m, were selected deep sons and healthy plants in vegetative phase with 7 and 11 total produced leaves. Then, it was expected for the foliar emission 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 and 36 (produced leaves) and seven (7) individuals were selected for each phase of foliar emission, for a total of 63 sampled plants.

The variables evaluated on each plant were: height of the plant (Alt), measured from the base of the corm to the insertion of the petiole of the third leaf; perimeter of the pseudo-stem measured at the middle of the height of the pseudo-stem and number of leaves produced. To each plant was determined if it was or not in floral transition through visual observations and also using a stereoscope magnifying glass.

The corms of truly stems were selected in portions of approximately 20 cm of longitude, which had the meristem area, surrounded by the bases of petioles of the pseudo-stem in the superior area, and the inferior extreme conserved a portion of the reserve tissue. These samples of corm were identified and cut longitudinally with a knife in two equal parts, going throughout the meristem area. A part of the sample was wrapped in foil paper and immediately stored in a cooler glass with liquid nitrogen for determining GAs.

The analysis was done at the Research Center Laboratory of Natu-

El análisis se realizó en los Laboratorios de Productos Naturales del Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados de IPN (CINVESTAV), en la ciudad de Irapuato México. El resto de las muestras de cormo, se llevaron al laboratorio de suelos de la Facultad de Agronomía de La Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, en Barquisimeto estado Lara, Venezuela, para la determinación de elementos minerales.

Igualmente se tomaron muestras foliares de cada planta de acuerdo a la normativa establecida por el muestreo internacional de referencia (MEIR), la cual consiste en tomar una porción de la parte central de la tercera hoja (FIII) o banda central (Lacoeuilhe y Prével, 1971).

Las muestras foliares colectadas, se lavaron con agua destilada y ácido clorhídrico (HCl) al 7% a fin de eliminar las impurezas. Todas las muestras se secaron hasta un peso constante en una estufa de precisión aireada a 70°C, luego fueron homogeneizadas en un molino de pasto con una malla de orificios de 1 mm; los elementos a determinar fueron N, P, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Mn, Fe, Cu y Zn.

La metodología de digestión por incineración fue a 500°C por 5 horas y disolución de las muestras en ácido Nítrico al 32,5%. El fósforo se determinó por colorimetría ultravioleta en solución vanado-molíbica. El K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Mn, Fe, Cu y Zn se determinaron por vía seca con un espectrofotómetro de absorción atómica marca Perkin- Elmer, modelo 303, (Jones y Case, 1990), mientras la lectura de K⁺ se hizo por medio de un fotómetro de llama, marca Zeltec. La

ral Products of Advanced Researches of IPN (CINVESTAV), in Irapuato, Mexico. The rest of corm's samples were taken to the Laboratory of Soils of the Agronomy Faculty, University "Centro Occidental Lisandro Alvarado", Barquisimeto, Lara state, Venezuela, for the determination of mineral elements.

Likewise, foliar samples of each plant were taken according to the norm established by the International Reference Sampling (MEIR), which consists on taking a portion of the central part of the third leave (FIII) or central band (Lacoeuilhe and Prével, 1971).

The collected foliar samples were washed with distilled water and chlorhydric acid (HCl) at 7% with the aim of determining the impureness. All the samples were let dry until obtaining a constant weight in a stove at 70°C, then, were homogenized in pasture mill with a hole mesh of 1 mm; the elements to be determined were N, P, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Mn, Fe, Cu and Zn.

The digestion methodology by incineration was at 500°C for 5 hours and dissolution of the samples in Nitric Acid at 32.5%. Phosphorous was determined by ultraviolet colorimetry in a vanadium-molybdate solution. The K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Mn, Fe, Cu and Zn were determined with a spectrophotometer of atomic absorption Perkin-Elmer brand, 303 model (Jones and Case, 1990), while the lecture of K⁺ was done using a flame photometer, Zeltec brand. The determination of N was done using the Kehjald method.

Extraction and quantification of GAs

The determination of GAs was done using the Liquid

determinación del N se utilizó el método de Kehjdal.

Extracción y cuantificación de GAs

La determinación de GAs, se realizó por medio de la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución o HPLC adaptada por el Laboratorio de productos vegetales del CINVESTAV. Para ello se tomaron cinco (5) gramos de tejido (muestra proveniente de una mezcla liofilizada de cormos de cada uno de los estados de emisión foliar), y se colocaron en un mortero con nitrógeno líquido, se agregó 20 mL de metanol al 80% acidificado con ácido acético y dibutil hidroxitolueno (como antioxidante), y se trituro los tejidos hasta obtener una mezcla homogénea. La mezcla de extracción se dejó durante 24 horas en agitación constante a 4°C y en oscuridad ya que las GAs son fotodegradables. Luego, se centrifugó el extracto y se desechó el precipitado. El líquido sobrenadante se concentró a sequedad con un rotaevaporador a una temperatura no mayor de 40°C. Una vez concentrada la muestra, ésta se suspendió en 2,5 ml de Buffer de fosfato 1M y se realizaron tres lavados con acetato de plomo al 4%. Posteriormente se agregó polivinilpirrolidona (PVP) al extracto en la proporción de 50 mg.mL⁻¹ de solución, dejándose transcurrir 15 minutos. Seguidamente se realizó otro filtrado para eliminar trazas de PVP, luego se acidificó a un pH de 2.5 a 3 con HCl 3N. Luego, se realizaron otros tres lavados con acetato de etilo puro para recuperar el componente orgánico y se lavó tres veces en una solución de bicarbonato de sodio al 5%, usando el embudo de decantación. Aquí se recu-

Chromatography technique of high resolution or HPLC adapted by the Laboratory of Vegetal Products of CINVESTAV. For this, five (5) grams of the tissue were taken (sample coming from a liofilized mix of corms from each of the phases of the foliar emission), and were put in a mortar with liquid nitrogen, 20 ml of methanol was added at 80% acidified with acetic acid and butylated hydroxytoluene (as antioxidant), and mashed the tissues until obtaining an homogenous mix. The extracting mix was let for 24 hours in constant agitation at 4°C and in a dark area, since GAs are photodegradable. Later, the extract was centrifuged and the precipitate was thrown away. The supernatant liquid was concentrated in drought with a rota-evaporator at a temperature no higher than 40°C. Once concentrated the sample, it suspended in 2.5 ml of phosphate Buffer 1M as were done the three washes with lead phosphate at 4%. Subsequently, was added Polyvinylpyrrolidone (PVP) to the extract in the proportion of 50 mg.mL⁻¹ of solution, for 15 minutes. Later, another filtering was done to eliminate traces of PVP, then, was acidized at a pH of 2.5 to 3 with HCl 3N. Later, another three washes were done with pure ethil acetate to recover the organic component, and was washed three times in a sodium bicarbonate solution at 5%, using a separating funnel recovering the organic phase, concentrated later to drought with a flow of gas nitrogen. Finally the "pellet" was suspended with methanol at 80% in the desired volume.

The equipment used to determine the GAs was a Hewllet Packard

peró la fase acuosa y se ajustó el pH a 2.5-3. Luego, se lavó 3 veces con acetato de etilo en embudo de decantación recuperándose la fase orgánica, concentrándose después a sequedad con un flujo de nitrógeno gaseoso. Finalmente el "pellet" se resuspendió con metanol al 80% en el volumen deseado.

El equipo utilizado para determinar las GAs fue un Hewlett Packard 1050 series, acoplado a un detector de Luz UV Waters 2487, empleando una columna de fase reversa Varian Crown Spher 5 C18, (25 cm de longitud x 4.6 mm de diámetro y partícula de 5 μ m de diámetro). Se utilizó como fase móvil MeOH/ácido fosfórico 10 mM (35:65)/350 μ l de muestra/650 μ l de ácido fosfórico 10 mM; el volumen de inyección se realizó a 206 nm. La GA presente en las muestras se determinó a partir de la relación de áreas de los picos del cromatograma correspondiente a las GAs de la muestra y los estándares de GA₃, GA₄ y GA₇ utilizando una recta de calibración.

Resultados y discusión

Se observó que las plantas que alcanzaron una altura y perímetro superior a los 200 cm y 40 cm respectivamente, con 27 hojas emitidas (figura 1), habían alcanzado la transición floral en más de un 40% de las plantas muestreadas, pudiendo comenzar a ocurrir esta transición entre una o dos hojas antes de la hoja 27, pero no en hoja 24.

Es después de la hoja 27 y hasta la 36, donde se observaron incrementos en los valores de estas dos variables, probablemente asociado con el momento en el que ocurre la transi-

1050 series, along to a UV Light detector Waters 2487, employing a column of a reverse phase Varian Crown Spher 5 C18, (2.5cm of longitude x 4.6 mm of diameter and particle of 5 μ m of diameter). It was used as movable phase MeOH/phosphoric acid 10 mM (35:65)/350 μ l of sample/650 μ l of phosphoric acid 10mM; the injection volume was done at 206 nm. The GA present in the samples was determined after the areas' relation of the peaks from the chromatogram corresponding to the GAs of the sample and the standards GA₃, GA₄ y GA₇ using a calibration line.

Results and discussion

It was observed that plants reached a height and perimeter superior to 200 cm and 40 cm respectively, with 27 leaves produced (figure 1), plants had reached the floral transition in more than 40% of the sampled plants, this transition could have started in one or two leaves before leave 27, but not in leave 24.

It is after the leave 27 and until 36, where were observed increments in the values of these two variables, maybe related to the moment where the floral transition occurs in the corm. In the field, this floral transition might be detected when cutting longitudinally the reserve area of central cylinder of the corm, which is immediately under the vegetative apex, which changes the shape from rounded to triangle or similar to a volcano, indicating the beginning of the elevation of the true stem in these plants (Bijú and Kurien, 1994).

These results agree to the observation don stunted Harton plantain, where

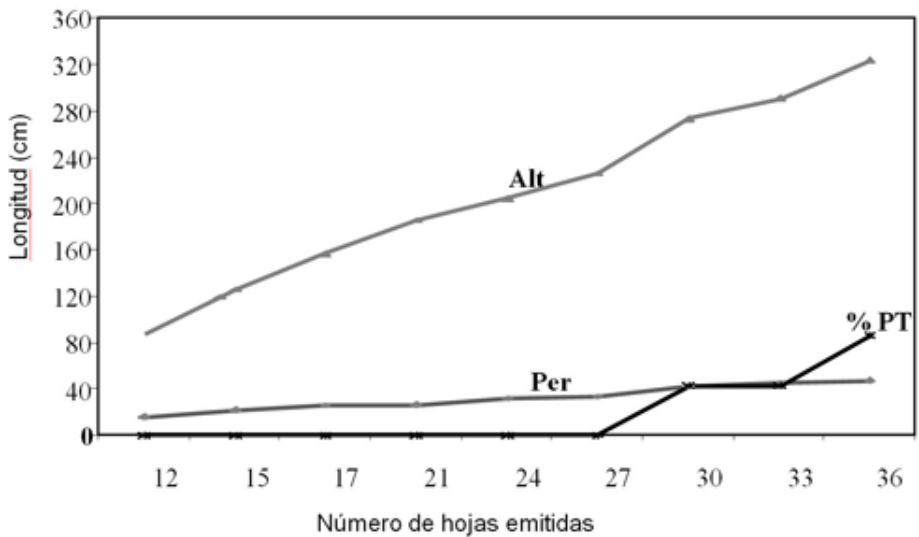


Figura 1. Altura (Alt) y perímetro (Per) del pseudotallo en centímetros y porcentaje de plantas de plátano con transición floral (%PT) en diferentes estados de emisión foliar.

Figure 1. Height (Alt) and perimeter (PER) of the pseudo-stem in centimeters and percentage of plantain plants with floral transition (%PT) in different phases of the foliar emission.

ción floral en el cormo. En el campo, esta transición floral puede detectarse al cortar longitudinalmente la zona de reserva o cilindro central del cormo, que está inmediatamente por debajo del ápice vegetativo, la cual cambia de forma redondeada a una forma triangular o parecido a un volcán, indicando el comienzo de la elevación del tallo verdadero en estas plantas (Bijú y Kurien, 1994).

Estos resultados concuerdan con lo observado en plátano Hartón enano, donde a través de cortes histológicos desde la hoja 15 hasta la 36, se determinó que la transición floral ocurrió también a partir de la hoja 27 (Hernández *et al.*, 2007). Ambos resultados pueden diferir con investigacio-

through histologic cuts from leaf 15 to 36, was determined that the floral transition also happened after the leaf 27 (Hernández *et al.*, 2007). Both results might differ with the researches carried out in Colombia, where was found that the floral transition occurred when 50% of the plants have produced 38±2 of the total leaves of their life's cycle (Belalcázar *et al.*, 1994).

According to the latter, the foliar transition must have occurred after the leaf 19, 20 or 21, and not in the rank of leaves 25-27 as in the observed in this research. However, it must be highlight that the total number of leaves produced reported in *Musa* might be considered as an average

nes realizadas en Colombia, donde se encontró que la transición floral ocurrió cuando el 50% de las plantas habían emitido las 38 ± 2 hojas totales de su ciclo de vida (Belalcázar *et al.*, 1994).

Según lo señalado anteriormente, la transición foliar debió ocurrir a partir de la hoja 19, 20 ó 21, y no en el rango de hojas 25-27 como lo observado en esta investigación. Sin embargo, cabe destacar que el número total de hojas emitidas reportado en *Musa*, podría considerarse como un valor promedio de referencia, dado que el tiempo de aparición de la inflorescencia puede variar considerablemente y depende de las condiciones edafoclimáticas donde se desarrolle el cultivo, principalmente de la temperatura, humedad y fertilidad del suelo (Hernández *et al.*, 2007).

Niveles de giberelinas en plátano Hartón durante la fase de transición floral.

El análisis por HPLC, realizado en muestras de cormos de plantas con diferentes estados de emisión foliar, mostró que la giberelina detectada fue la GA_3 , siendo este tipo de GAs una forma activa dentro de las más de 100 tipos de GA identificadas en plantas y hongos. También se detectó una pequeña cantidad de otra giberelina activa, la GA_4 , pero solo en muestras foliares de plantas que emitieron 12 hojas.

Las GAs activas, deben acumularse en una cierta cantidad en los tejidos para promover el crecimiento e inducir la floración (Blázquez *et al.*, 2004). Algunas formas de GAs inactivas son precursores de GAs activas y su acumulación también está asociada con procesos fisiológicos.

Los niveles de GA_3 encontrados,

reference value, because the time of apparition of the inflorescence might vary considerably and depends on the soil-weather conditions where this crop develop, mainly on the temperature, humidity and fertility of the soil (Hernández *et al.*, 2007).

Levels of gibberellins in Harton plantain during the floral transition phase

The analysis for HPLC done in corms' samples of plants with different phases of foliar emission, showed that the gibberellins detected was GA_3 , being this GAs an active way inside the more of the hundred types of GA identified in plants and fungi. It was also detected a small quantity of other active gibberellins, the GA_4 , but just in foliar samples of plants that produced 12 leaves.

The active GAs, must accumulate in certain quantities in the tissues to promote the growth and induce the flowering (Blázquez *et al.*, 2004). Some ways of inactive GAs are precursors of active GAs and their accumulation are also related to physiological processes.

The levels of GA_3 found, showed two maximum values (figure 2) being the first high value observed in plants with 18 leaves produced, with 1519 $ng \cdot g^{-1}$ of MS and the following corresponded to the emission of the leave 30, with 1631 $ng \cdot g^{-1}$ MS. This second increment of GA_3 after leave 21 might be related to the preparation of the plant in the accumulation of this hormone to induce the meristem change from the vegetative to the reproductive, starting the stimulation (18 – 24 leaves) before observing any sign of floral transition.

mostraron dos valores máximos (figura 2) siendo el primer valor alto observado en plantas de 18 hojas emitidas, con 1519 ng.g⁻¹ de MS y el siguiente correspondió a la emisión de la hoja 30, con 1631 ng.g⁻¹ MS. Este segundo incremento de GA₃ a partir de la hoja 21, puede estar muy relacionado con la preparación de la planta en la acumulación de esta hormona para inducir el cambio del meristemo vegetativo al reproductivo, empezando el estímulo (18-24 hojas) antes de que pueda observarse algún indicio de transición floral.

En la emisión de la hoja 33, los niveles más altos de GA₃ disminuyeron en 600 ng.g⁻¹ MS, quizás como algún tipo de regulación negativa sobre las enzimas que catalizan los pasos finales en la formación de GAs inactivas a ac-

In the emission of the leave 33, the highest levels of GA₃ reduced to 600 ng.g⁻¹ MS, maybe as some type of negative regulation on the enzymes that catalyze the final steps in the formation of inactive GAs to active (Mitchum *et al.*, 2006). The increment of GA₃, after leave 21 might induce the lengthening of the truly stem that will emerge from the center of the pseudostem with the formation of the inflorescence in some upcoming weeks or months.

It is proved that GA₃ has a strong intervention in the lengthening of the stems in plants (Fu and Harberd, 2003). Also, the lowest value of GA₃ found in leave 21 might indicate that until that moment happen the highest increment in the accumulation of reservoirs in the corm

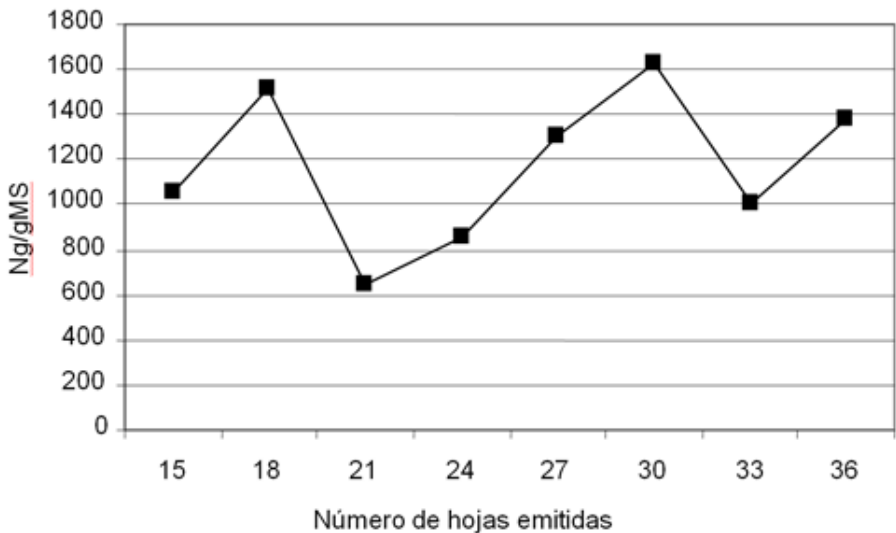


Figura 2. Niveles de GA₃ endógena en cormos de plantas de plátano Hartón, con diferentes estados de emisión foliar.

Figure 2. Levels of endogenous GA₃ in corms of Harton plantain plants with different phases of foliar emission.

tivas (Mitchum *et al.*, 2006). El incremento de GA₃, a partir de la hoja 21, podría estar induciendo el alargamiento del tallo verdadero, que emergerá del centro del pseudotallo con la formación de la inflorescencia en algunas semanas o meses más adelante.

Está bien comprobado que las GA₃ intervienen fuertemente en el alargamiento de los tallos en las plantas (Fu y Harberd, 2003). Además el valor más bajo de GA₃ encontrado en hoja 21, podría indicar que hasta ese momento ocurre el mayor aumento en la acumulación de reservas en el cormo antes de llegar a la etapa reproductiva, ya que se ha demostrado que las GA₃ actúan inhibiendo la acumulación de reservas o tuberización, como por ejemplo en plantas de patata (Rodríguez y Prat, 2005).

Otro aspecto sobre los niveles de GA₃ encontrados en esta investigación, es que los mismos fueron mayores a los reportados en estudios realizados en tejido foliar de variantes somaclonales enanos de *Musa cv. Grande Naine AAA*, donde GA₃ presentó niveles de 811 ng/g MS (Sandoval *et al.*, 1994).

En ese mismo estudio, se encontró además que los niveles de GA₃ fueron de 3,5 a 4,5 veces mayor en los clones normales o gigantes comparados con aquellas plantas enanas, sugiriendo entonces que existe una fuerte relación entre el contenido endógeno de GA₃ (deficiencia-insensibilidad) y el enanismo (Hartón enano). Sin embargo, no se analizó el contenido de GA₃ con respecto a la transición floral. Lo anterior puede corroborarse en plátano con los resultados obtenidos por Hernández *et al.* (2007), en los cuales

before coming to the reproductive phase, since it is proved that GA₃ act inhibiting the accumulation of reservoirs and tuber, for example, in potato plants (Rodríguez and Prat, 2005).

Another aspect on the levels of GA₃ found in this research is that these were higher than the reported in other researches done in foliar tissue of stunted somaclonal variants of *Musa cv. Grande Naine AAA*, where GA₃ presented levels of 811 ng/g MS (Sandoval *et al.*, 1994).

In the same research was found that the levels of GA₃ were from 3.5 to 4.5 times higher in normal to giant clones compared to those of stunted plants, suggesting that there is a strong relation between the endogenous content of GA₃ (deficiency-insensibility) and dwarfism (stunt Harton). However, the content of GA₃ was no done refer to the floral transition. The latter might be corroborated in plantains with the results obtained by Hernández *et al.*, (2007), where for stunted Harton the concentration of GA₃ was lower than the reported for giant or normal Harton.

Mineral elements and GA₃ during the floral transition in plantain

As can be seen in figure 3a, the levels of Ca²⁺ in leaves reduce progressively after the leave 12 and until leave 27, where were found in the field plants with indications of floral transition. In samples of corms, could be appreciated a tendency in the increment of Ca²⁺ values from the leave 15 to 34.

The reduction observed in the values of Ca²⁺ in leave 21, in both foliar

para el Hartón enano la concentración de GA_3 fue menor a la reportada en el Hartón gigante o normal.

Elementos minerales y GA_3 durante la transición floral en plátano

Como se puede apreciar en la figura 3a, los niveles de Ca^{2+} en hojas disminuyen progresivamente después de la hoja 12 y hasta la hoja 27, donde se encontró en campo plantas con inicios de transición floral. En muestras de cormos, se pudo apreciar una tendencia en el aumento de los valores de Ca^{2+} desde la hoja 15 y hasta la 24.

El descenso observado en los valores de Ca^{2+} en hoja 21, tanto en muestras foliares como de cormo, coincidió con la primera disminución en los valores de GA_3 , no siendo así para hoja 27. A partir de la hoja 27, los niveles de Ca^{2+} para muestras foliares y de cormo, se incrementaron ligeramente, teniendo quizás alguna relación con el valor más alto de GA_3 .

Lo anterior pudiera estar indicando alguna asociación del elemento Ca^{2+} y las GAs, ya que esta hormona estimula la acumulación de Ca^{2+} dentro de la membrana celular, como se ha reportado en arroz. Este evento conduce a la activación de las enzimas alfa amilasas necesaria en la degradación de almidones de reservas utilizados como fuentes de energía por las células en división (Nanjo *et al.*, 2004).

Para el elemento N (figura 3b) se pudo observar que mantuvo una relación inversamente proporcional entre los contenidos en muestras de cormos y hojas, manteniéndose el N un poco estable en sus valores desde la hoja 21 y hasta llegar a la hoja 27, disminuyendo en ambos tejidos al llegar a hoja 30. Los valores de N en muestras de

and corm samples, agreed to the first reduction in the values of GA_3 but not in leave 27. After leave 27, the values of Ca^{2+} for foliar and corms samples slightly increased, with some apparent relation to the highest value of GA_3 .

The latter might be explaining some association of the element Ca^{2+} and GAs, since this hormone stimulates the accumulation of Ca^{2+} inside the cellular membrane, as has been reported in rice. This event carries to the activation of the alpha amylase enzymes necessary in the degradation of reserve starch used as source of energy by the cells in division (Nanjo *et al.*, 2004).

For the element N (figure 3b) could be observed that it kept an inversely proportional relation between the contents in samples of corms and leaves, keeping the N a little stable in the values from leave 21 until reaching leave 27, reducing in both tissues when reaching leave 30. The values of N in leaves' samples were always considerably high than the ones found in corms and could be seen in foliar samples some relation in the increment in the levels of GA_3 with the reduction of N in leaves 18 and 30.

For the element K^+ (figure 4a), could be seen an inverse relation between the content in leaves and corms, being the highest value found in corms and reducing drastically until reaching leave 30, which was the lowest value for the element K^+ agreeing to the highest value of GA_3 (1631,5 ng.gMS⁻¹).

For P (figure 4b) in samples of leaves and corms, was observed a very similar tendency in both tissues, finding in leave 21 and 27 the lowest

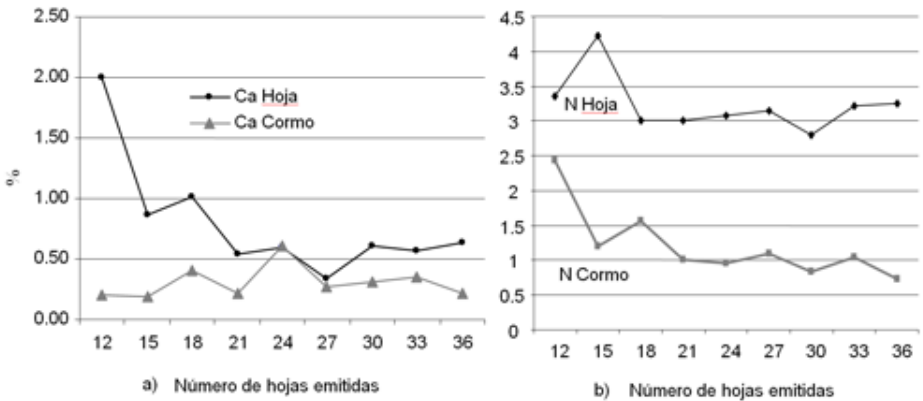


Figura 3. a) Contenido de calcio (Ca^{2+}) y b) Nitrógeno (N) en muestras foliares y de cormos en plantas de plátano Hartón, con diferentes estados de emisión foliar.

Figure 3. a) Content of calcium (Ca^{2+}) and b) nitrogen (N) in foliar and corms samples in Harton plantain plants with different phases of foliar emission.

hojas siempre fueron considerablemente más altos que en los encontrados en cormos y se pudo apreciar en muestras foliares cierta relación de aumento en los niveles de GA_3 con la disminución del N en hojas 18 y 30.

Para el elemento K^+ (figura 4a), se pudo observar una relación inversa entre los contenidos en hojas y cormos, siendo el mayor valor encontrado en cormos y disminuyendo drásticamente hasta alcanzar la hoja 30, la cual fue el valor más bajo del elemento K^+ coincidiendo con el valor más alto de GA_3 ($1631,5 \text{ ng.gMS}^{-1}$).

Mientras para el P, (figura 4b) tanto en muestras de hojas como de cormo, se observó una tendencia muy similar en ambos tejidos, encontrándose en hoja 21 y 27 los valores más bajo para este elemento. Es a partir de hoja 18 donde los valores de este elemento se incrementan más en muestras de cormos que en las hojas. Los

values for this element. It is after leaf 18 where the values of this element increase more in samples of corms than in leaves. The levels of P for both samples kept relation to GA_3 from leaf 18 until leaf 24, in the moment P differs in both types of tissues with the reduction of its value respect to the increment of GA_3 .

Regarding Mg^{2+} , (figure 5a) their contents in leaves and in corms differ completely in the tendency of their values, except in the foliar phases 18 and 21, where were found similar concentrations of the element. It was observed that in sampled of corms after leaf 21, presented a considerable increment in the levels of Mg^{2+} and generally a similar tendency to the observed for GA_3 .

The latter might indicate that there is a relation between the hormone and the mineral, due to the first phases in the synthesis of GA is

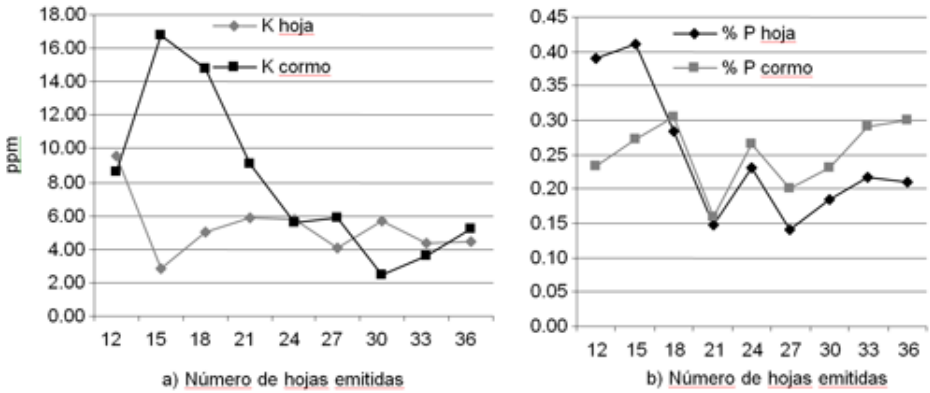


Figura 4. a) Contenido de potasio (K^+) y b) Fósforo (P) en muestras foliares y de cormos en plantas de plátano Hartón, con diferentes estados de emisión foliar.

Figure 4. a) Content of potassium (K^+) and b) phosphorous (P) in foliar and corms samples in Harton plantain plants with different phases of foliar emission.

niveles de P para ambas muestras mantuvieron relación con las GA_3 desde la 18 y hasta hoja 24, donde a partir de allí el P difiere en ambos tipos de tejidos con la disminución de su valor con respecto al aumento de las GA_3 .

En cuanto al Mg^{2+} , (figura 5a) sus contenidos en hojas y en cormos difieren completamente en cuanto a las tendencias de sus valores, exceptuando en los estados foliares 18 y 21, donde se encontraron concentraciones similares del elemento. Se pudo observar que en muestras de cormos a partir de la hoja 21 presentó un incremento considerable en los niveles de Mg^{2+} y en general una tendencia similar a lo observado para GA_3 .

Lo anterior pudiera indicar que existe una relación entre la hormona y el mineral, dado que los primeros

the conversion of mevalonic acid to entkaurene, needing this acid the presence of ATP y Mg^{2+} . Also, it has been found that mineral cations such as K^+ and Mg^{2+} are important in the mobilization of reservoir carbohydrate in gramineae seeds (Hooley, 1994).

For Zn^{2+} (figure 5b), the element was presented in more elevated quantities in samples of corms than in foliar samples, excepting in leaf 24, being the only phase of foliar emission where the value of Zn^{2+} in leaves surpasses the corm. Thus, it could be observed a considerable increment of this element in the corm and reduction in foliar samples. It was not found in this element any type of direct relation to GA_3 in samples of corms or leaves. Only, after leaf 24, the tendency in the levels of Zn^{2+} increment as well as in GA_3 .

pasos en la síntesis de GA es la conversión del ácido mevalónico a entkaureno, necesitando este ácido la presencia de ATP y Mg^{2+} . Además, se ha encontrado que cationes minerales como K^+ y Mg^{2+} son importantes en la movilización de carbohidratos de reserva en semillas de gramíneas (Hooley, 1994).

Para Zn^{2+} (figura 5b), el elemento se presentó en cantidades más elevadas en muestras de cormos que en muestras foliares, exceptuando en hoja 24, siendo el único estado de emisión foliar donde el valor de Zn^{2+} en hojas supera al cormo. De allí se pudo observar un incremento considerable este elemento en el cormo y disminución en muestras foliares. No se encontró en este elemento algún tipo de relación directa con la GA_3 en muestras de cormos ni de hojas. Sólo, luego de hoja

While for elements Fe and Mn (figure 6^a and 6b), there are similar tendencies regarding the quantities of the elements during the highest part of the phases of the foliar emission, observing in both elements and in both types of tissues (leaves-corms), minimum values in leaves 21, 27 and 30, with an important increment just in leaf 24 for samples of corm.

A similar tendency was observed in quantities of Fe and Mn on the foliar samples. Both elements show certain relation to GA_3 from leaf 12 until leaf 21, very similar to other mineral elements previously mentioned. In general terms, the mineral elements N, Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe and Mn, were found in higher quantity in leaf's tissue than in corm, and it as in the phases of the foliar emission 21 and 24 where were observed variations of reduction

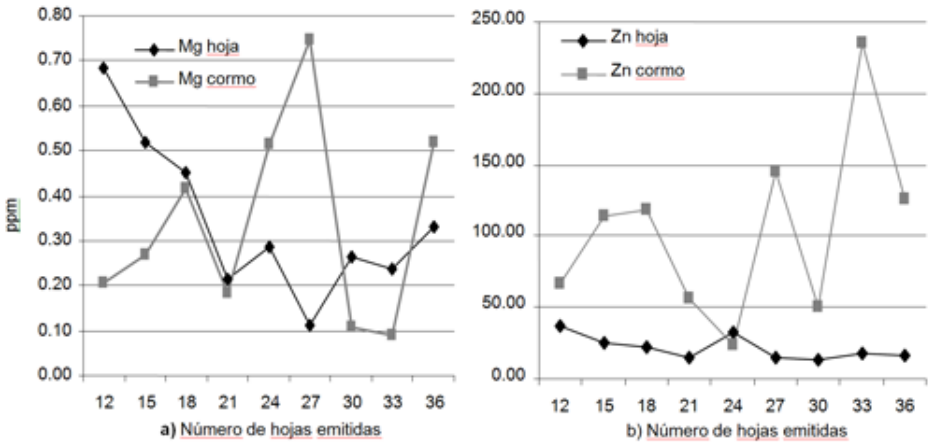


Figura 5. a) Contenido de magnesio (Mg^{2+}) y b) Zinc (Zn^{2+}) en muestras foliares y de cormos en plantas de plátano Hartón, con diferentes estados de emisión foliar.

Figure 5. a) Content of magnesium (Mg^{2+}) and b) Zinc (Zn^{2+}) in foliar and corms samples in Harton plantain plants with different phases of foliar emission.

24, la tendencia en los niveles Zn^{2+} se incrementa al igual que en la GA_3 .

Mientras que para los elementos Fe y Mn (figura 6a y 6b), se muestran tendencias similares en cuanto a las cantidades de los elementos durante la mayor parte de los estados de emisión foliar, observándose en ambos elementos y en ambos tipos de tejidos (hojas-cormos), valores mínimos en hojas 21, 27 y 30, con un incremento importante solo en hoja 24 para muestras de cormo.

Similar tendencia se observó en las cantidades de Fe y Mn sobre las muestras foliares. Ambos elementos muestran cierta relación con las GA_3 desde la hoja 12 y hasta la hoja 21, muy parecidos esta tendencia a otros elementos minerales anteriormente observados. En líneas generales, los elementos minerales N, Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe y Mn, se encontraron en mayor cantidad en tejido de hoja que en el cormo y

and increment in values of Ca^{2+} , P, Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe and Mn for both types of tissues.

These tendencies in the variation of the mineral elements in corms and leaves according to the foliar emission phase must be taken into consideration at the time of formulating and conducting fertilization plans in plantain that would allow applying more efficiently the nutrients to this crop.

Conclusions

The floral transition in Harton plantain could be observed after the phase of foliar emission in leave 27, being apparent the gibberellic acid detected on GA_3 , which apparently could have the main responsible of the lengthening of the reproductive stem in Harton plantain. Apparently, Mg^{2+} , Ca^{2+} and K^+ keep some relation in the

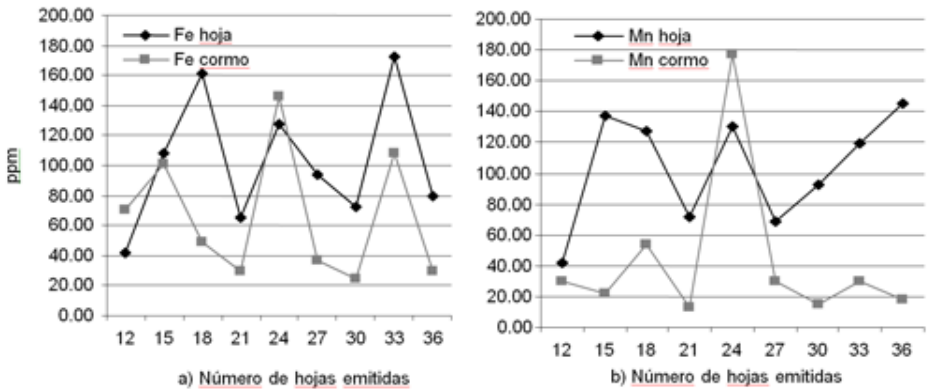


Figura 6. a) Contenido de Hierro (Fe) y b) Manganeso (Mn) de muestras foliares y de cormos en plantas de plátano Hartón, con diferentes estados de emisión foliar.

Figure 6. a) Content of Iron (Fe) and b) Manganese (MN) in foliar and corms samples of Harton plantain plants with different phases of the foliar emission.

fue en los estados de emisión foliar 21 y 24 donde se observó variaciones de disminución y aumento en los valores del Ca^{+2} , P, Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe y Mn para ambos tipos de tejidos.

Estas tendencias en las variaciones de los elementos minerales en cormos y hojas según el estado de emisión foliar, debería tomarse en cuenta a la hora de formular y realizar planes de fertilización en plátano que permitieran aplicar de forma más eficiente los nutrimentos a este cultivo.

Conclusiones

La transición floral en plátano Hartón pudo observarse después del estadio de emisión foliar hoja número 27, siendo aparentemente el ácido giberélico detectado la GA_3 , el cual aparentemente puede ser el principal responsable del alargamiento del tallo reproductivo en el plátano Hartón. Aparentemente, el Mg^{2+} , Ca^{2+} y K^+ mantienen alguna relación en cuanto a los contenidos de las GA_3 detectados en cormos de estas plantas. En general en hojas 21 y 27, se encontraron los valores más bajos en los elementos minerales determinados, pudiendo indicar esto alguna señal previa de la planta antes de entrar en transición floral.

Literatura citada

- Belalcázar, S. 1994. El cultivo del plátano en el trópico. Manual de asistencia técnica Número 50. INIBAP. Colombia. 376 pp.
- Bijú, S.V. y S. Kurien. 1994. Evolución de los caracteres morfológicos en relación a la iniciación and diferenciación de la yema floral en el banano. *INFOMUSA*. 3(2): 65 pp.
- Blázquez, M., M. Trénor y D. Weigel. 2002. Independent control of gibberellin biosynthesis and flowering time by the circadian clock in *Arabidopsis*. *Plant physiology*. (130):1770-1775.
- Chailakhyan M. y V.N. Khryanin. 1980. Hormonal regulation of sex expression in plants. *Plant growth substances*. 2:331-344.
- Eastmond P. y J. Russell. 2005. Hormonal regulation of gluconeogenesis in cereal aleurona is strongly cultivar-dependent and gibberellin action involves SLENDER1 but not GAMYB. *The Plant Journal*. 44:483-493.
- Fu X. y N. P. Harberd. 2003. Auxin promotes *Arabidopsis* root growth by modulating gibberellin response. *Nature*. 421: 740-743.
- Gilroy, S. y L. Russell. 1992. Gibberellic acid and abscisic acid co-ordinately regulate cytoplasmic calcium and secretory activity in barley aleurone protoplasts. *Plant Biology*. 89:3591-3595.
- Hernández, Y., C. Giménez y M. Gómez Lim. 2007. La transición floral en plátano *MusaAAB* cv Hartón enano: genética y ontogenia. *Memorias del VI Encuentro Latinoamericano y del Caribe de Biotecnología Agropecuaria*. RedBio Chile 2007. Viña del Mar. 442 pp.
- Hooley R. 1994. Gibberellins: perception, transduction and responses. *Plant Molecular Biology*. 26: 1529-1555.

End of english version

- ICA. 1991. Instituto Colombiano Agropecuario. El Cultivo del Plátano en el Trópico. Descripción de variedades cultivadas. Bogotá. Colombia. 35pp.
- Jones J. R. y V. Case. 1990. Sampling, handling and analyzing plant tissue samples in: Soil testing and plant analysis. SA Book. Series N° 3. Tercera Edición. Westerman. Madison. Wi. EUA. 123pp.
- Lacoeuille, J. y M. Prével. 1971. Culture sur milieu artificiel: carences en K, Mg, Ca chez le bananier: analyse foliare. Fruits 26(4):243-253.
- MARNR. 1996. Datos Climatológicos, Estación Santa Bárbara, años 1968-1996. El Vigía, Edo. Mérida, Venezuela. 32 p.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Second Edition. Institute of plant nutrition. University Hohenheim. 1 Stuttgart-Hohenheim, Federal Republic. 674 p.
- Medvedev S.S. 2005. Calcium signaling system in plant. Plant physiology. 52(2):249-270.
- Mishra, S., B. Desai y B. Gaur. 1981. Effect of gibberellic acid spraying on banana fruit development. Current Science 50(6): 275-277.
- Mitchum M., S. Yamaguchi, A. Hanada, A. Kuwahara, Y. Yoshioka, T. Kato, S. Tabata, Y. Kamiya and S. Tai-Ping. 2006. Distinct and overlapping roles of two gibberellin 3-oxidases in *Arabidopsis* development. The Plant Journal. 45:804-818.
- Nanjo Y., S. Asatsuma, K. Itoh, H. Hori, T. Mitsui and Y. Fujisawa. Posttranscriptional regulation of alfa amylase II-4 expression by gibberellin in germinating rice seeds. Plant Physiology and Biochemistry. 42:477-484.
- Ohto, M., K. Onai, A. Furukawa, E. Aoki, T. Araki and A. Nakamura. 200. Effect of sugar on vegetative development and floral transition in *Arabidopsis*. Plant Physiol. 127:252-261.
- Olszewski N., T-P. Sun. y F. Gluber. 2002. Gibberellin signalling: biosynthesis, catabolism and, response pathways. Plant cell, 14 (Suppl.): S61-S80.
- Ozga J. y D. Reinecke. 2003. Hormonal Interactions in fruit Development. J Plant Growth Regul. 22:73-81.
- Rademacher, W., C. Kober. 2003. Efficient use of Prohexadione-Ca in pome fruits. European Journal of Horticultural Science 68(3):107-107.
- Rodríguez M. y S. Prat. 2001. Giberelinas y fotoperíodo en el proceso de tuberización en patata. Departamento de genética molecular del CSIC. Barcelona, España. 18-26.
- Sandoval J., C. Teisson, F. Cote y P. Doumas. 1994. Identificación y cuantificación de giberelinas en plantas variantes somaclonales y normales de *Musa* (cv. Grande Naime AAA) mediante HPLC y espectrometría de masa. Trabajo presentado en la XI reunión de ACORBAT. Costa Rica. pp 149- 161.
- Simpson G., R. Gendall y C. Dean. 1999. When to switch to flowering. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. (99):519-50.
- Stephen T. y S. Tai-ping. Update on Gibberellin signalling. A tale of the tall and the short. Plant Physiology. 135:668-676.
- Swennen, R. y G. Wilson. 1984. Preliminary investigation of the effects of gibberellic acid (GA₃) on sucker development in plantain (*Musa* cv. AAB) underfield conditions. Tropical Agriculture. 61 (4): 253-256.
- Van Heusden Gourguet y P. Lindhout. 2004. Parthenocarpic Fruit Development in tomato. *Plant Biol.* 7: 131-139.