

Participación de las auxinas en la acumulación de biomasa pre- y pos-trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas a través de bandejas multicelda en un sistema tradicional o en un sistema de bandejas flotantes

*Tesis presentada para optar al título de Magister de la Universidad de Buenos Aires,
Área de producción vegetal*

Máximo Patricio Salinas

Ingeniero agrónomo Universidad de Buenos Aires
2023

Lugar de trabajo: Cátedra de floricultura, FAUBA



Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad de Buenos Aires

COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

Adalberto Hugo Di Benedetto

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Magister Scientiae (Universidad de Buenos Aires)
Doctor en Ciencias Agropecuarias (Universidad de Cuyo)

Co-director

Juan María De Lojo

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)
Magister Scientiae (Universidad de Buenos Aires)

JURADO DE TESIS

Dr. Pablo Marinangeli

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional del Sur)
Magister en Ciencias Agrarias (Universidad Nacional del Sur)
Doctor en Agronomía (Universidad Nacional del Sur)

Dr. Daniel Santiago Kirschbaum

INTA, EEA Famaillá, Tucumán

Dr. Santiago Trupkin

INTA, EEA Castelar, Buenos Aires

Fecha de defensa de la tesis: 26 de abril de 2023

Agradecimientos

- Agradezco a los Técnicos Esteban Gandolfo y Guido Hakim por su colaboración en el mantenimiento del cultivo y procesado de las muestras.

Declaración

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo, y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en esta u otra institución.

Máximo Patricio Salinas

ÍNDICE GENERAL

Resumen	xv
Abstract	xvii
CAPÍTULO 1 - INTRODUCCIÓN GENERAL	17
1.1. Origen y características	18
1.2. La restricción radical como fuente de estrés abiótico	19
1.3. Participación de auxinas endógenas y su interacción con las citocininas en el crecimiento de las plantas.....	24
1.4. Sistema flotante	28
1.5. Objetivos	33
1.6. Hipótesis.....	34
CAPÍTULO 2 - MATERIALES Y MÉTODOS	35
CAPÍTULO 3.....	40
Comparación de la propagación en bandejas multicelda con y sin sistema flotante.	40
3.1. INTRODUCCIÓN	40
3.2. RESULTADOS	41
3.3. DISCUSIÓN	50
CAPÍTULO 4.....	55
Participación de las auxinas y las citocininas en el control de los procesos fisiológicos asociados con la acumulación de biomasa	55
4.1. INTRODUCCIÓN	55
4.2. RESULTADOS	57
4.3. DISCUSIÓN	67
CAPÍTULO 5.....	72
Efecto de la restricción radical en pos-trasplante sobre la acumulación y partición de biomasa.....	72
5.1. INTRODUCCIÓN	72
5.2. RESULTADOS	73
5.3. DISCUSIÓN	83
CAPÍTULO 6 - CONTRASTE DE HIPÓTESIS Y CONCLUSIONES.....	90
7. BIBLIOGRAFÍA	93

Índice de cuadros

- Cuadro 3.1.** Efecto del número de celdas por bandeja y el sistema de propagación sobre la tasa de crecimiento relativo (RGR), la tasa de asimilación neta (NAR) y la relación de área foliar (LAR) en plantas de *Impatiens walleriana* durante la fase de siembra-trasplante. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre bandejas con distinto número de celdas. La probabilidad que la pendiente de RGR sea cero fue $P < 0,001$ 44
- Cuadro 3.2.** Efecto del número de celdas por bandeja y el sistema de propagación sobre la tasa de aparición de hojas (RLA) y la tasa relativa de expansión foliar (RLAER) en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las bandejas con diferente número de celdas. La probabilidad que la pendiente de RLA y RLAER sea cero fue $P < 0,001$ 46
- Cuadro 3.3.** Efecto del número de celdas por bandeja y el sistema de propagación sobre el área foliar específica (SLA) (sobre una base de peso seco y fresco) y la relación de peso foliar (LWR) durante la fase de siembra-trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre bandejas con diferente número de celdas..... 48
- Cuadro 3.4.** Efecto del número de celdas por bandeja y del sistema de propagación sobre la tasa de crecimiento relativa de la raíz (RRGR) y la relación raíz/parte aérea durante la propagación. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas distintas entre bandejas con diferente número de celdas ($P < 0,05$) y letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación. La probabilidad que la pendiente de la RRGR sea cero fue $P < 0,001$ 49
- Cuadro 4.1.** Efecto del asperjado exógeno con auxinas e inhibidores del transporte de auxinas y de la síntesis de citocininas endógenas sobre sobre la tasa de aparición de hojas (RLA) y la tasa relativa de expansión foliar (RLAER) en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en bandejas con diferente número de celdas y en dos sistemas de propagación. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre bandejas con diferente número de celdas. La probabilidad que la pendiente de RLA y RLAER sea cero fue $P < 0,001$ 58
- Cuadro 4.2.** Efecto del asperjado exógeno de auxinas e inhibidores del transporte de auxinas y de la síntesis de citocininas endógenas sobre la tasa de crecimiento relativo (RGR), la tasa de asimilación neta (NAR) y la relación de área foliar (LAR) al momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en bandejas con diferente número de celdas y en dos sistemas de propagación. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre bandejas con diferente número de celdas. La probabilidad que la pendiente de RGR sea cero fue $P < 0,001$ 62

Cuadro 4.3. Efecto de bandejas con diferente número de celda y el sistema de propagación sobre el área foliar específica (SLA) (sobre una base de peso seco y fresco) y la relación de peso foliar (LWR) durante la fase de siembra-trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre bandejas con diferente número de celdas 64

Índice de figuras

- Figura 2.** Esquema experimental implementado: Sistema tradicional (A); Sistema flotante (B); Estadio de aplicación de AIA, NPA, TIBA y dopamina (C); Conducción pos-trasplante a cantero cerrado (D); Conducción pos-trasplante a cantero abierto (E). 36
- Figura 3.1.** Efecto del número de celdas por bandeja y del sistema de propagación sobre la acumulación de peso fresco total en plantas de *Impatiens walleriana* en el momento del trasplante. Sobre cada barra se indica el error estándar. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Peso fresco total}} = 0,169 \text{ g planta}^{-1}$ 41
- Figura 3.2.** Efecto del número de celdas por bandeja sobre la acumulación de peso seco en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas a través de un sistema tradicional (A) o en bandejas flotantes (B). Sobre cada barra se grafica el error estándar. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Peso seco total - Tradicional}} = 0,00999 \text{ g planta}^{-1}$ y $DMS_{\text{Peso seco total - Flotante}} = 0,011 \text{ g planta}^{-1}$ 42
- Figura 3.3.** Efecto del número de celdas por bandeja y el sistema de propagación sobre la expansión de área foliar en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. Sobre cada barra se indica el error estándar. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Área foliar}} = 2,191 \text{ cm}^2 \text{ planta}^{-1}$ 43
- Figura 3.4.** Relación entre la tasa de asimilación neta (NAR) (A), la relación de área foliar (LAR) (B) y la tasa de crecimiento relativo (RGR) para plantas de *Impatiens walleriana* cultivadas en un sistema tradicional (símbolos vacíos) y un sistema flotante (símbolos llenos) en bandejas con diferente número de celdas. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $NAR_{\text{Tradicional}} = 99,89 \text{ RGR} - 3,18$ ($r^2 = 0,857$; $P < 0,001$); $NAR_{\text{Flotante}} = 99,89 \text{ RGR} - 8,89$ ($r^2 = 0,949$; $P < 0,001$); $LAR_{\text{Tradicional}} = 1212,80 \text{ RGR} + 43,71$ ($r^2 = 0,683$; $P < 0,001$); $LAR_{\text{Flotante}} = 861,83 \text{ RGR} + 13,97$ ($r^2 = 0,548$; $P < 0,001$) 45
- Figura 3.5.** Efecto del sistema de propagación tradicional de bandejas multicelda (A) y un sistema flotante (B) sobre la apariencia de la raíz a través del orificio de drenaje en plántulas de *Impatiens walleriana* 46
- Figura 3.6.** Relación entre tasa de aparición de hojas (RLA) (A), tasa relativa de expansión de área foliar (RLAER) (B) y área foliar total al momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* cultivadas en un sistema tradicional (símbolos vacíos) y un sistema flotante (símbolos llenos) en bandejas con cuatro números de celdas distintos. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $RLA_{\text{Tradicional}} = 0,0065 \text{ AF} + 0,1088$ ($r^2 = 0,860$; $P < 0,001$); $RLA_{\text{Flotante}} = 0,0065 \text{ AF} + 0,0995$ ($r^2 = 0,888$; $P < 0,001$); $RLAE_{\text{Tradicional}} = 0,002 \text{ AF} + 0,1235$ ($r^2 = 0,903$; $P < 0,001$); $RLAE_{\text{Flotante}} = 0,0042 \text{ AF} + 0,1042$ ($r^2 = 0,804$; $P < 0,001$) 47
- Figura 3.7.** Relación entre área foliar específica en base de peso seco (SLA_{Seco}) (A), relación de peso foliar (LWR) (B) y tasa de crecimiento relativo (RGR) al momento de trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* cultivadas en un sistema tradicional (símbolos vacíos) y un sistema flotante (símbolos llenos) en bandejas con cuatro números de celdas distintos. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $SLA_{\text{Seco - Tradicional}} = -5531,00 \text{ RGR} + 1636,80$ ($r^2 = 0,756$; $P < 0,001$); $SLA_{\text{Seco - Flotante}} = -5532,00 \text{ RGR} + 929,13$ ($r^2 = 0,629$; $P < 0,001$); $LWR_{\text{Tradicional}} = -2,58 \text{ RGR} + 0,69$ ($r^2 = 0,895$; $P < 0,001$); $LWR_{\text{Flotante}} = -3,82 \text{ RGR} + 1,08$ ($r^2 = 0,714$; $P < 0,001$). En la sub-figura C se indica la relación entre el área foliar específica (sobre una base de

peso fresco) (SLA_{Fresco}) y la tasa de asimilación neta (NAR). Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $SLA_{\text{Fresco - Tradicional}} = -0,75 \text{ NAR} + 42,27$ ($r^2 = 0,825$; $P < 0,001$); $SLA_{\text{Fresco - Flotante}} = -1,89 \text{ NAR} + 40,08$ ($r^2 = 0,739$; $P < 0,001$) 50

Figura 4.1. Efecto del asperjado exógeno de auxinas e inhibidores del transporte de auxinas sobre la expansión de área foliar en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en diferentes tamaños de celda y dos sistemas de propagación, tradicional (A) y flotante (B). Sobre cada barra se indica el error estándar. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Área foliar - Tradicional}} = 1,92 \text{ cm}^2 \text{ planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Área foliar - Flotante}} = 3,53 \text{ cm}^2 \text{ planta}^{-1}$ 57

Figura 4.2. Relación entre la tasa de aparición de hojas (RLA) (A), la tasa relativa de expansión de área foliar (RLAER) (B) y el área foliar total al momento de trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* cultivadas en bandejas de cuatro tamaños distintos. Los puntos vacíos son las observaciones correspondientes a plantas testigo y aquellas tratadas con AIA, NPA, TIBA y dopamina en el sistema tradicional y los puntos llenos son las observaciones correspondientes a plantas testigo y aquellas tratadas con AIA, NPA, TIBA y dopamina en el sistema flotante. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $RLA_{\text{Tradicional}} = 0,009 \text{ AF} + 0,091$ ($r^2 = 0,780$; $P < 0,001$); $RLA_{\text{Flotante}} = 0,0106 \text{ AF} + 0,086$ ($r^2 = 0,671$; $P < 0,001$); $RLAER_{\text{Tradicional}} = 0,004 \text{ AF} + 0,109$ ($r^2 = 0,620$; $P < 0,001$); $RLAER_{\text{Flotante}} = 0,002 \text{ AF} + 0,124$ ($r^2 = 0,547$; $P < 0,001$) 59

Figura 4.3. Efecto del asperjado exógeno de auxinas e inhibidores del transporte de auxinas sobre la acumulación de peso fresco total en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en diferentes tamaños de celda y dos sistemas de propagación, tradicional (A) y flotante (B). Sobre cada barra se indica el error estándar. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Peso fresco total - Tradicional}} = 0,14061 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Peso fresco total - Flotante}} = 0,24629 \text{ g planta}^{-1}$ 60

Figura 4.4. Efecto del asperjado exógeno de auxinas e inhibidores del transporte de auxinas y de síntesis de citocininas sobre la acumulación de peso seco total en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en bandejas con diferente número de celdas y en dos sistemas de propagación, tradicional (A) y flotante (B). Sobre cada barra se indica el error estándar. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Peso seco total - Tradicional}} = 0,01359 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Peso seco total - Flotante}} = 0,01820 \text{ g planta}^{-1}$ 61

Figura 4.5. Efecto del número de celdas bandeja⁻¹, el sistema de propagación (A), el asperjado con AIA (B) e inhibidores de la síntesis y el transporte de auxinas (TIBA, C; NPA, D) y la síntesis de citocininas endógenas (dopamina = E) sobre la acumulación de peso seco particionado en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. Sobre cada barra se indica el error estándar. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Testigo - Raíz}} = 0,00522 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Testigo - Parte aérea}} = 0,01080 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{AIA - raíz}} = 0,00440 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{AIA - Parte aérea}} = 0,01216 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{TIBA - Raíz}} = 0,00524 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{TIBA - Parte aérea}} = 0,00936 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{NPA - Raíz}} = 0,00809 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{NPA - Parte aérea}} = 0,01157 \text{ g planta}^{-1}$ 66

Figura 4.6. Relación entre el área foliar específica sobre una base de peso fresco ($SLA_{\text{-fresco}}$) y la tasa de asimilación neta (NAR) al momento de trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en un sistema tradicional (puntos llenos) o uno flotante (puntos vacíos), en bandejas con distinto número de celdas y asperjadas con AIA, TIBA, NPA o dopamina. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $SLA_{\text{Fresco - Tradicional}} = 0,889 \text{ NAR} + 40,06$ ($r^2 = 0,960$; $P < 0,001$); $SLA_{\text{Fresco - Flotante}} = 0,756 \text{ NAR} + 36,16$ ($r^2 = 0,792$; $P < 0,001$) 67

Figura 5.1. Efecto de bandejas multicelda con diferente número de celdas y del sistema de propagación sobre el área foliar total 70 días después del trasplante (A), RLA (B), RLAER (C) y SLA_{Fresco}(D). Las sub-figuras E y F muestran las relaciones entre RLA, RLAER y el área foliar total al final del pos-trasplante respectivamente. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: Área foliar_{Tradicional} = 245,83 RLA - 62,46 ($r^2 = 0,886$; $P < 0,001$); Área foliar_{Flotante} = 271,73 RLA - 64,25 ($r^2 = 0,975$; $P < 0,001$); Área foliar_{Tradicional} = 5880,8 RLAER - 397,73 ($r^2 = 0,862$; $P < 0,001$); Área foliar_{Flotante} = 5967,2 RLAER - 379,78 ($r^2 = 0,701$; $P < 0,001$). Sobre cada barra se indica el error estándar. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): LSD_{Área foliar - Tradicional} = 96,07 cm² planta⁻¹; LSD_{Área foliar - Flotante} = 88,31 cm² planta⁻¹; Símbolos: testigos (vacíos); AIA (llenos). Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): DMS_{Área foliar} = 83,28 cm² planta⁻¹ 77

Figura 5.2. Efecto de bandejas multicelda con diferente número de celdas y el sistema de propagación sobre el peso fresco (A) y seco (B, C, D y E) a los 70 días pos-trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. El análisis del peso seco incluyó los testigos sin tratamiento (C y E) y las plantas asperjadas con AIA (B y D) conducidos en forma tradicional (B y C) o dentro de un sistema flotante (D y E). Sobre cada barra se indica el error estándar. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): DMS_{Peso fresco total} = 6,71 g planta⁻¹; DMS_{Peso seco total - AIA - Tradicional} = 0,53750 g planta⁻¹; DMS_{Peso seco total - AIA - Flotante} = 0,61362 g planta⁻¹; DMS_{Peso seco total - Testigo - Tradicional} = 0,51195 g planta⁻¹; DMS_{Peso seco total - Testigo - flotante} = 0,57328 g planta⁻¹ 78

Figura 5.3. Efecto de bandejas multicelda con diferente número de celdas y el asperjado o no con AIA sobre RGR (A), NAR (B) y LAR (C) en dos sistemas de propagación en plantas de *Impatiens walleriana* 80

Figura 5.4. Efecto de bandejas multicelda con diferente número de celdas y el sistema de propagación en plantas de *Impatiens walleriana* sobre las alometrías raíces/parte aérea (A) y hojas/tallos (B) durante el pos-trasplante. La sub-figura C muestra la relación raíces/parte aérea al final de la etapa de pos-trasplante. Sobre cada barra se indica el error estándar 81

Figura 5.5. Relaciones entre diferentes estimadores del crecimiento para plantas de *Impatiens walleriana* cultivadas en bandejas con diferente número de celdas, cultivadas en dos sistemas de propagación y asperjadas con AIA en pre-trasplante. NAR (A), LAR (B) y RGR, DLS vs. NAR (C) y peso seco de las flores vs. RGR (D), NAR (E) y RLA (F). Testigos (símbolos vacíos), AIA (símbolos llenos). Las ecuaciones de regresión lineal fueron: NAR_{Tradicional} = 197,16 RGR - 13,84 ($r^2 = 0,866$); NAR_{Flotante} = 154,14 RGR - 11,04 ($r^2 = 0,837$); LAR_{Tradicional} = 3667,3 RGR - 132,79 ($r^2 = 0,246$); LAR_{Flotante} = 5026,1 RGR - 346,94 ($r^2 = 0,729$; $P < 0,001$); SLA_{Fresco - Tradicional} = -1,015 NAR + 28,48 ($r^2 = 0,729$; $P < 0,001$); SLA_{Fresco - Flotante} = -1.450 TAN + 29.73 ($r^2 = 0.762$; $P < 0,001$); PSF_{Tradicional} = 6,385 RGR - 0,527 ($r^2 = 0,894$; $P < 0,001$); PSF_{Flotante} = 4,413 RGR - 0,381 ($r^2 = 0,916$; $P < 0,001$); PSF_{Tradicional} = 0,027 NAR - 0,053 ($r^2 = 0,738$; $P < 0,001$); PSF_{Flotante} = 0,025 NAR - 0,045 ($r^2 = 0,839$; $P < 0,001$); PSF_{Tradicional} = 0,183 RLA - 0,121 ($r^2 = 0,617$; $P < 0,001$); PSF_{Flotante} = 0,176 RLA - 0,118 ($r^2 = 0,832$ $P < 0,001$). 83

Abreviaturas

AIA: ácido indolacético

BAP: 6-bencilaminopurina

DMS: mínima diferencia significativa

LAR: relación de área foliar (por sus iniciales en inglés “Lef Area Ratio)

LWR: relación de peso foliar (por sus iniciales en inglés “Leaf Weight Ratio)

NAR: tasa de asimilación neta (por sus iniciales en inglés “Net Assimilation Rate)

NPA: ácido N-1-naftilftalámico

PSF: peso seco flores

RGR: tasa de crecimiento relativa (por sus iniciales en inglés “Relative Growth Rate”)

RLA: tasa de aparición de hojas (por sus iniciales en inglés “Rate of Leaf Appearance”)

RLAER: tasa relativa de expansión foliar (por sus iniciales en inglés “Relative Leaf Area Expansion Rate”)

RRGR: tasa de crecimiento relativa de raíces (por sus iniciales en inglés “Relative Root Growth Rate”)

SLA: área foliar específica (por sus iniciales en inglés “Specific Leaf Area”)

TIBA: ácido 2,3,5-triyodobenzoico

Publicaciones derivadas de la tesis

SALINAS, M.; G. HAKIM; E. GANDOLFO; J. DE LOJO; E. GIARDINA; A. DI BENEDETTO (2022a): Response of the ornamental bedding plant *Impatiens walleriana* to plug cell volume on a floating system during nursery. *Ornamental Horticulture*, 28(2): 266-275 (ISSN 2447-536X).

SALINAS, M.; G. HAKIM; E. GANDOLFO; J. DE LOJO; E. GIARDINA; A. DI BENEDETTO (2022b): Involvement of auxins in *Impatiens walleriana* plants grown in different plug tray systems during nursery. *Ornamental Horticulture*, 28(3): 347-358 (ISSN 2447-536X).

SALINAS, M.; G. HAKIM; E. GANDOLFO; J. DE LOJO; E. GIARDINA; A. DI BENEDETTO (2023): Auxin involvement in the post-transplant responses of *Impatiens walleriana* plants to the root restriction during nursery. En: *The Future of Cropping Systems*, (Ed.), Nova Science Publishers, Inc. NY, USA. xx-xx (ISBN). En prensa.

SALINAS, M.; J. DE LOJO; A. DI BENEDETTO: Bandejas multicelda flotantes. En: *PROPAGACIÓN DE PLANTAS HORTÍCOLAS Y ORNAMENTALES EN BANDEJAS MULTICELDA*. (Ed. DI BENEDETTO, A.). Capítulo 5. Editorial Facultad de Agronomía (UBA) (en evaluación).

RESUMEN**Participación de las auxinas en la acumulación de biomasa pre- y pos-trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas a través de un sistema tradicional en bandejas multicelda o en un sistema de bandejas flotantes**

La necesidad de optimizar la productividad de los establecimientos propagadores de especies ornamentales ha generado una tendencia a reducir el tamaño de las celdas en la bandeja de propagación. Se ha sugerido recientemente que un menor volumen disponible de la celda para el crecimiento de la raíz puede influir negativamente sobre el área foliar de cada hoja individual y la biomasa total de las plantas ornamentales durante el cultivo posterior en macetas individuales. La reducción de la biomasa aérea en respuesta a un tamaño reducido del contenedor pre-trasplante ha sido asociada recientemente con un suministro insuficiente de citocininas por parte de las raíces. Se ha encontrado también una relación positiva auxinas-citocininas sobre la acumulación de biomasa pre- y pos-trasplante aunque la participación de las auxinas exógenas durante la fase de propagación en bandejas multicelda capaces de superar un estrés abiótico no ha sido descrito hasta la actualidad. Los objetivos de este proyecto fueron: (a) Describir la dinámica de crecimiento en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en diferentes tamaños de celda y bajo diferentes sistemas de conducción pre-trasplante (tradicional sobre mesadas versus bandejas flotantes); (b) Evaluar el efecto del asperjado exógeno con auxinas (AIA) pre-trasplante sobre la acumulación de biomasa total pre- y pos-trasplante, (c) Cuantificar el impacto del uso de inhibidores del transporte de auxinas (NPA-TIBA) y de la síntesis de citocininas endógenas (dopamina) sobre la acumulación de biomasa pre- y pos-trasplante y (d) Identificar cuali- y cuantitativamente los procesos involucrados. A mayor número de celdas por bandeja, el crecimiento tanto en los sistemas flotantes como en los tradicionales fue menor y está de acuerdo con resultados obtenidos en publicaciones anteriores de nuestro grupo de trabajo. En relación al sistema tradicional, el sistema flotante mostró una mayor expansión del área foliar, como resultado de una mayor tasa de aparición de hojas (RLA) y una mayor tasa relativa de expansión del área foliar (RLAER). Se encontraron mayores acumulaciones de peso fresco y seco a partir de mayores tasas de crecimiento relativo (RGR), con una fuerte relación con la capacidad de producción de foto-asimilados (estimada a través de la tasa de asimilación neta, NAR). Las plantas provenientes del sistema flotante y las asperjadas con AIA mostraron la mayor área foliar y el peso fresco y seco más alto en el momento del trasplante y después de 70 días de cultivo en macetas. El uso de NPA, TIBA y dopamina como antagonistas de la síntesis y translocación de auxinas y citocininas endógenas

redujeron los procesos fisiológicos involucrados en la generación del rendimiento en relación con las plantas testigo. Las auxinas podrían explicar, en parte, los cambios inducidos por la restricción radical durante la etapa de pre-trasplante y los patrones de crecimiento generados por este estrés abiótico. El asperjado temprano con AIA puede ser una alternativa comercial económica para reducir los efectos negativos de esta restricción radical y mejorar el rendimiento antes y después del trasplante.

Palabras clave: estrés abiótico, plantas ornamentales anuales en contenedores, crecimiento pre-trasplante, sistemas de propagación

ABSTRACT**Participation of auxins on the pre- and post-transplantation biomass accumulation in *Impatiens walleriana* plants propagated through a traditional plug tray system or in a floating trays system.**

The need of optimizing ornamental nursery management make a tendency to decrease plug cell tray volume. Recently, it has been suggested that a lower plug cell volume can negatively affect leaf area expansion and biomass accumulation in ornamental plants during the post-transplant cycle. It has recently been suggested that less volume available for root growth may negatively influence the leaf area of each individual leaf and the total biomass of ornamental plants during subsequent cultivation in individual pots. The reduction of aboveground biomass in response to reduced pre-transplant container size has recently been associated with an insufficient supply of cytokinins by roots. A positive auxin-cytokinin relationship on biomass accumulation pre- and post-transplantation has also been found, although the participation of exogenous auxins during the propagation phase in plug trays capable of suppressing this abiotic stress has not been described to date. The aims of this work were (a) to describe post-transplant biomass accumulation for plants from different plug cell volume and in two propagation systems (media based plug cell trays or on a floating system); (b) to analyzed the effect of pre-transplant shoot-applied synthetic auxin on total biomass accumulation pre- and post-transplant, (c) to quantify the effects of exogenous inhibitor of endogenous auxins (NPA-TIBA) and cytokinins (dopamine) synthesis on biomass accumulation and (d) to identify qualitative and qualitative related traits. The greater the number of cells, the lower the growth in both the media-based and floating systems, which is in agreement with that found in previous reports. Regarding to the traditional media-based system, the floating system showed higher leaf area expansion, as a result of higher leaf appearance rate (RLA) and the relative leaf area expansion rate (RLAER). Higher fresh and dry weight accumulation were estimated through the relative growth rate (RGR) with a strong relationship with the capacity of photo assimilate production (net assimilation rate, NAR). Plants from the floating system and those sprayed with IAA showed the highest leaf area and both highest fresh and dry weight at the end of the pre- and post-transplant stage were found in plants from the floating systems and those IAA-sprayed. The use of NPA, TIBA and dopamine as antagonists of the synthesis and translocation of auxins and synthesis of cytokinins reduced the physiological processes studied in relation to control plants. Auxins could explain in part the stress-induced changes in plant architecture and growth

patterns and they can be a commercial alternative to reduce the negative effects of a root restriction and improved pre- and post-transplant yield.

Key Words: abiotic stress, ornamental annual pot plants, pre-transplant growth, propagation systems

CAPÍTULO 1 - INTRODUCCIÓN GENERAL

En numerosas especies vegetales se ha estudiado el impacto de diferentes tipos de estrés (bióticos y abióticos) sobre su productividad o calidad (Gull, 2019; Verma et al., 2016) siendo el “sistema de señalización de dos componentes” (TCS, por sus iniciales en inglés “Two-Component Signaling System”) el circuito de señalización esencial que regula las respuestas frente a los mismos (Singh et al., 2021).

En la producción de plantas ornamentales en maceta se ha puesto énfasis en los últimos años por parte de nuestro grupo de trabajo en un estrés de tipo abiótico que se origina a partir del espacio limitado en la celda en la bandeja multicelda para el crecimiento de las raíces, que se da tanto en la etapa de propagación como de producción, extendiéndose su efecto hasta la finalización del ciclo de la planta (Di Benedetto et al., 2020a, b). Esto último no solo afecta las características estéticas de la planta sino también el comportamiento y capacidad adaptativa en su destino final (De Lojo et al., 2019b; De Lojo et al., 2021), todos aspectos vinculados al éxito comercial de la planta.

De la observación de resultados obtenidos en otras especies (Bantis et al., 2021; Cristofano et al., 2021; Kabranova et al., 2014; Jakše et al., 2013; Karnoutsos et al., 2021) ha surgido como alternativa a los experimentos sobre estrés radical que se llevan a cabo en bandejas multicelda de distinto tamaño de celda, la implementación de otro tipo de sistema de propagación, el de bandejas flotantes, donde las raíces pueden crecer libremente en la solución nutritiva, evitando el efecto restrictivo de raíces que se da en el sistema tradicional.

Por otro lado, existen diversos ensayos en especies ornamentales y hortícolas que incluyeron el uso de la citocinina sintética 6, bencil amino purina (BAP) (De Lojo et al., 2019a; Di Benedetto et al., 2020a, b; Geraci et al., 2018; Khalil et al., 2021) como aliviador de este tipo de situaciones de estrés abiótico. Además, a pesar que el uso de AIA tuvo un efecto positivo sobre el crecimiento de plantas de *Impatiens* “New guinea” (Molinari et al., 2020) sigue siendo escasa la evidencia que respalda este resultado (Di Benedetto et al., 2015b, 2018). Otro aspecto a tener en cuenta para el uso de auxinas sintéticas es su bajo costo en relación a otros reguladores de crecimiento comerciales.

1.1 Origen y características

Impatiens walleriana Hook. f. es una especie del género *Impatiens*, familia Balsaminaceas orden Balsaminales. Por la biodiversidad del género y mediante estudios filogenéticos, se han determinado seis áreas de mayor diversidad genética originarios del sudeste de China (Yuan et al., 2004): Sudeste de Asia, África tropical, Madagascar, sur de India, Himalaya del este y Sri Lanka (Rahelivololona et al., 2018; Shajitha et al., 2016; Ruchisansakun et al., 2015). Este género es uno de los más numerosos de las Angiospermas y cuenta con más de 1.000 especies (Janssens et al., 2009) lo cual lo hace difícil de clasificar taxonómicamente. Cuenta con especies que se desarrollan en variados regímenes de precipitación, temperatura y altitud.

Impatiens walleriana conocida vulgarmente como “Alegría del Hogar”, “Buzzy lizzy”, “Patience plant” o “Balsamine”, es nativa del África oriental tropical (Kenya, Tanzania, Malawi, Mozambique) y es cultivada como ornamental en numerosos países. Incluso algunas especies se han naturalizado en ciertas regiones catalogándose como invasoras (Pier, 2018); sin embargo, otras especies están consideradas en peligro de extinción (IUCN, 2020).

Impatiens walleriana originalmente se desarrolla en ambientes fríos y húmedos (Mandle et al., 2010). Es una especie ornamental cultivada desde hace más de cien años y una de las más populares a nivel global. En Argentina, según el censo horti-florícola de la Provincia de Buenos Aires del año 2005 (CHFBA, 2005), del total de producción de plantines para jardinería y macetas con flores comercializadas, *Impatiens walleriana* ocupó el primer lugar con un 20,45%. Es una planta de bordura propagada por semillas, perenne o anual que produce gran cantidad de follaje y flores de diversos colores durante un largo período de tiempo, razón por la cual se destaca en el mercado de plantas en maceta.

Posee tallos semi suculentos de 15-50 cm de altura con abundantes ramificaciones y glabras. Hojas de 3-5 cm de largo y 1-3 cm de ancho, pecioladas, alternas con gran capacidad de adaptar su filotaxis al ambiente lumínico (Boeger et al., 2009). Generalmente ovadas de ápice redondeado, agudo, acuminado o algo cuspidado. Inflorescencias en racimos axilares generalmente de dos flores, raramente flores solitarias o más de tres flores, brácteas 2 o más, pedúnculos de 2-5 cm y pedicelos de 1-3cm. Flores zigomorfas de colores variados, sépalos laterales 3-7 mm e inferiores de 10-16 mm, espuela filiforme, flores de 3-5 cm con 5 pétalos, superiores y laterales inferiores fusionados hacia la base. Fruto cápsula (Christenhusz, 2009)

1.2 La restricción radical como fuente de estrés abiótico

Las raíces no solo proveen de nutrientes y anclaje a las plantas sino también se encargan de censar las condiciones físico-químicas del medio en el que crecen y de enviar señales a la parte aérea generando así cambios en el crecimiento y el metabolismo, que le permiten a la planta adaptarse al medio en el que crece (Maurel et al., 2010; Kolb et al., 2017) y mantener un equilibrio funcional entre sistema radical y los vástagos aéreos. Se ha determinado que esta relación es controlada por un mecanismo fisiológico de naturaleza hormonal (Bartoli et al., 2013; Zwack & Rashotte, 2015).

Desde hace 30 años, la siembra directa de especies ornamentales ha sido casi totalmente reemplazada por la siembra en bandejas multicelda y posterior trasplante a un contenedor de mayor tamaño o a suelos modificados. La mayor parte de los estudios que abordan la calidad del plantín en el momento del trasplante y su comportamiento pos-trasplante han sido publicados recientemente por el grupo de investigación de la Cátedra de Floricultura U.B.A. (Di Benedetto et al., 2020a, b). Los factores que influyen sobre la acumulación de biomasa, y otras variables, que han sido más exhaustivamente estudiados son: tamaño de las celdas en la bandeja multicelda (De Lojo et al., 2017; Di Benedetto et al., 2011), calidad del sustrato (Gandolfo et al., 2016; Hakim et al., 2017; Pagani et al., 2015; Di Benedetto et al., 2007), uso de reguladores del crecimiento (Molinari et al., 2019; Di Benedetto et al., 2015a, b), fertilización (Thibaud et al., 2012; Sala et al., 2016) y sus interacciones (De Lojo et al., 2019a; De Lojo et al., 2019b; Williams et al., 2016).

La tendencia a utilizar bandejas multicelda con un número creciente de celdas para aumentar la densidad y reducir los ciclos de producción de plantines homogéneos, genera no solo un estrés físico al limitar el crecimiento vertical de la raíz, sino que además altera la dinámica de nutrientes, el pH, la variación de humedad y la disponibilidad de oxígeno del medio (Di Benedetto et al., 2011). Publicaciones previas de nuestro grupo de trabajo indican que el crecimiento diagravitrópico de la raíz (vulgarmente llamado enroscamiento de la raíz) (Di Benedetto et al., 2006) dentro de la celda de cultivo está acompañado de una reducción de la ramificación radical lo que en paralelo estaría afectando la producción de hormonas que se sintetizan allí, tales como las citocininas (Sakakibara, 2021).

Las células de las plantas superiores poseen en la membrana plasmática receptores de la familia de las histidina-kinasas que además pueden presentar un dominio extracelular de unión-

ligando llamado CHASE (por sus iniciales en inglés “Cyclases/Histidine kinases associated with Sensing Extracelular”) (Stankovic, 2018), el cual está en continua evolución para percibir distintos estímulos externos (Pas et al., 2004). Estos receptores o transductores de señales son los encargados de percibir los estreses ambientales y, a partir de un ligando llamado primer mensajero, iniciar una cascada de señalización por un segundo mensajero (Singh et al., 2021; Stankovic, 2018). Adicionalmente, las plantas poseen canales iónicos mecano-sensitivos que son un mecanismo común para percibir y responder a fuerzas mecánicas (Stankovic, 2018). En *Arabidopsis thaliana* la familia de los canales de actividad complementaria Mid1 son mecano receptores involucrados en la respuesta a un estrés mecánico extracelular a las raíces (Basu & Haswell, 2017).

Una respuesta común encontrada en ensayos previos fue un menor peso seco de la parte aérea y la raíz a medida que aumentó el número de celdas de la bandeja acompañado de un aumento en la relación raíces/parte aérea en plantas al momento de trasplante (Di Benedetto et al., 2020a, b), incluso en *Impatiens walleriana*, (Di Benedetto & Klasman, 2007; De Lojo et al., 2017, 2019a, b).

Por otro lado, al momento de venta en macetas de 800 cm³, los mayores pesos secos totales se encontraron en plantas provenientes de bandejas con menor número de celdas, diferencias dadas por un mayor peso seco de parte aérea. Estas respuestas fueron acompañadas de relaciones raíces/parte aérea más bajas (Di Benedetto et al., 2004). Asimismo, De Lojo et al. (2017) obtuvieron a los 70 días pos-trasplante mayor peso frescos totales, área foliar total, tasa de aparición de hojas (RLA), tasa de expansión foliar relativa (RLAER), tasa de crecimiento relativo (RGR), tasa de asimilación neta (NAR) y menor relación de área foliar (LAR) en bandejas de 50 celdas y valores decrecientes a medida que aumentó el número de celdas por bandeja. Además registró mayores particiones hacia raíces y menores hacia tallo con el aumento de número de celdas en la bandeja.

Se sugirió que estas respuestas al tamaño de celda estarían integradas principalmente por los niveles endógenos de citocininas (Zwack & Rashotte, 2015). Aunque dichas fitohormonas se producen en todos los tejidos del vegetal y sus diversas formas cumplen distintas funciones, la principal fuente son las raíces (en particular las células del centro quiescente en los meristemas apicales de la raíz). Ante una disminución o aumento de su biomasa, menor o mayor es la producción y transporte vía xilema de ribósidos de zeatina o

citocininas en forma libre o biológicamente activa (Kotov & Kotova et al., 2015). De Lojo et al. (2019a, 2017) mostraron también correlaciones positivas entre la biomasa radical y la RLAER, la RLA, la RGR, la NAR y el contenido de glucosa frente al agregado de citocininas sintéticas exógenas (BAP).

Numerosos ensayos pusieron a prueba la hipótesis de que una aplicación exógena de BAP aumenta el contenido endógeno de la hormona ayudando a superar parcialmente el efecto negativo del estrés por el volumen reducido de celda (De Lojo et al., 2019b; Di Benedetto et al., 2013, 2015a, b, 2018, 2020a, b; Molinari et al., 2018, 2019, 2020). Así, en *Impatiens walleriana*, De Lojo et al. (2017) con 100 mg L⁻¹ de BAP exógena en pre-trasplante obtuvieron aumentos significativos de materia fresca total para las bandejas con 50, 128, 288 y 512 celdas, mayor área foliar total en los tamaños más restrictivos (512 y 288 celdas bandeja⁻¹), valores de RLA mayores solo en los tamaños menos restrictivos (50 y 128 celdas bandeja⁻¹) y además incrementos de RLAER, RGR, NAR y contenido de glucosa.

La partición de foto-asimilados favoreció a la parte aérea en la mayoría de las bandejas con mayor número de celdas, con pocos cambios en las bandejas con menor número de celdas. Los coeficientes alométricos (que relacionan los diferentes órganos de la planta a través de la acumulación de peso seco) hojas: tallos fueron mayores en las bandejas con menor número de celdas y viceversa. Para el peso fresco y los estimadores de crecimiento calculados sobre una base de peso seco se determinó una interacción significativa entre los tres factores evaluados: aplicación de BAP, tamaño de celda y calidad de sustrato, sin embargo, la respuesta ante la aplicación de BAP en las bandejas con cuatro números de celda diferentes mantuvo una tendencia consistente en los cuatro sustratos evaluados.

Como las citocininas, junto con las auxinas, giberelinas y otras hormonas controlan de manera independiente y en combinación el desarrollo de la parte aérea (Durbak et al., 2012) especialmente la división y diferenciación de los meristemas apicales del tallo (Brenner & Schmülling, 2015), es de esperar que muchos de estos cambios observados se atribuyan directamente a su concentración y actividad en los tejidos aéreos.

En este sentido, un menor tamaño del meristema apical se puede reflejar en la duración del plastocrono (Skylar & Wu, 2011) y estimar a partir de la disminución de la RLA en plantas propagadas en bandeja con muchas celdas y su aumento ante asperjados con la citocinina

sintética BAP (De Lojo et al., 2017, 2019a). Por otro lado, estos resultados explican la variación del área foliar total y el área foliar individual. Shani et al. (2010) demostró mediante manipulación genética que aumentos en los niveles de citocininas reducían el plastocrono, aumentaban la expansión foliar y esto estaba acompañado del aumento de tamaño del meristema apical aéreo. Por otro lado, los cambios en partición entre raíces y parte aérea también se explicarían por los niveles endógenos de citocininas y el asperjado foliar con BAP ya que se alterarían las relaciones fuente-destino (Roitsch & Ehneb., 2000).

Sin embargo, el crecimiento y desarrollo de las raíces está regulado por la relación entre auxinas y citocininas endógenas (Jing & Strader, 2019). Es sabido que las citocininas regulan negativamente el crecimiento y desarrollo de la raíz primaria, raíces laterales y adventicias (Su et al., 2011; Jing & Strader, 2019), por lo tanto, bajos niveles endógenos determinarían un mayor crecimiento radical y menor aéreo, moviendo la relación a favor de la raíz y de forma opuesta cuando se asperjo con BAP ya que se estimulan directamente los meristemas apicales aéreos.

Las citocininas son fitohormonas que actúan en la progresión del ciclo celular, intervienen en la síntesis proteica y están implicadas en el metabolismo de azúcares alterando la actividad de enzimas participantes del ciclo glucolítico y de la vía oxidativa de la Pentosa Fosfato (Hartig et al., 2006; Merewitz et al., 2011; Scott et al., 1964; Zwack & Rashotte, 2013).

Aparecen naturalmente en vegetales como glucósidos, nucleósidos y ribósidos, siendo las más comunes la *trans*-zeatina, 4-hidroxi-3-metiltrans-2-butenilaminopurina, N⁶- Δ^2 isopentiladenina y la hidroxi-3-metil-trans-2-butenil aminopurina (George et al., 2008b). Estas hormonas son producidas predominantemente en los ápices de las raíces a través de las vías del metileritritol fosfato (MEP) y la del ácido mevalónico (MEV) y translocadas a través del xilema al resto de la planta. Los mecanismos de transporte de estas hormonas están poco comprendidos a diferencia de las auxinas.

La homeostasis de las citocininas es resultado de la síntesis llevada a cabo principalmente por las isopentiltransferasas (IPTs) y el catabolismo por las citocinina oxidasas deshidrogenasas (CKXs) (Sakakibara, 2021). Las citocininas suelen estar en forma libre o activa o en su forma conjugada inactiva (Osugi et al., 2017). Ya que no existen mutantes de síntesis ni de señalización de citocininas en ornamentales, tradicionalmente en experimentación se

utilizan compuestos exógenos antagónicos de la vía metabólica de esta hormona, entre ellos los estructuralmente relacionados con la octapamina, como la triamina y la dopamina, sin embargo en *Brassica oleracea* var. *gemmifera* se obtuvieron resultados confusos al tratar las plantas con este último inhibidor (Lozano-Miglioli et al., 2020). Lo mismo ocurrió en *Limonium sinuatum* (resultados no publicados).

Los niveles endógenos también pueden alterarse con tratamientos exógenos, en *Ficus benjamina*, Di Benedetto et al. (2020c) obtuvo con una única aplicación de citocininas siete días pos-trasplante con una concentración de 5 mg L⁻¹, una promoción del peso fresco y seco total y del área foliar total. Se encontraron mayores particiones de materia seca hacia los órganos aéreos con tendencia a disminuir la relación raíces/parte aérea ante aplicaciones sucesivas. Esta respuesta del área foliar se atribuye a la mayor división y expansión celular promovida por las citocininas en el meristema apical aéreo, es sabido que las citocininas promueven los transcritos de los genes *IKNOTEDlike homebox (KNOX1)* (Rupp et al., 1999). Las proteínas KNOX reprimen la biosíntesis de las giberelinas, aumenta la de las citocininas y además promueve el catabolismo de giberelinas lo que contribuyen a mantener la actividad meristemática por sobre la diferenciación celular (Hay et al., 2010).

También se registraron aumentos de la tasa de aparición de hojas atribuido a una disminución del filocrono o a un aumento de la ramificación. Incrementos del número de hojas y su área individual contribuyeron a una mayor RLAER, de la misma manera se obtuvo aumentos en RLA. Los menores tamaños de planta observados se correspondieron con los controles y menores RGR, esto explicado más por NAR que por LAR (Di Benedetto et al., 2020c). Los aumentos de tasa fotosintética se atribuyeron al mayor contenido de clorofila y partición de nitrógeno hacia las hojas promovido por las citocininas (Cortleven & Schmölling, 2015). Es sabido que gran parte del nitrógeno foliar se encuentra en la enzima RUBISCO (Evans & Clarke, 2019) que tiene función en el ciclo de Calvin.

Resultados similares se hallaron en *Impatiens* “New Guinea” (Molinari et al., 2018, 2019, 2020) y *Monstera deliciosa* (De Lojo et al., 2014). Por otro lado, Glanz-Idan et al. (2020) demostró en *Solanum lycopersicum* L. que sombreados o defoliaciones parciales conducían a incrementos de la tasa fotosintética de las hojas remanentes; dichos aumentos fotosintéticos se adjudicaron a aumentos en la biosíntesis de citocininas y acumulación de ribósidos trans-zeatin.

1.3 Participación de auxinas endógenas y su interacción con las citocininas en el crecimiento de las plantas

Las auxinas y las citocininas son dos hormonas que junto con las giberelinas, el etileno, el ácido abscísico, el ácido salicílico, el ácido jasmónico, los brasinoesteroides, las estrigolactonas e inclusive los azúcares, actúan e interactúan para regular numerosos procesos a nivel celular y tisular (Verma et al., 2016).

El balance hormonal regula el desarrollo tanto de los meristemas aéreos como los de la raíz, controlan el ciclo, la división, la elongación y diferenciación celular actuando desde la embriogénesis hasta la finalización del ciclo del vegetal, involucrándose también en los tropismos y el mantenimiento de la dominancia apical. Las fitohormonas no cumplen un único rol biológico en la planta sino que intervienen de manera sofisticada y eficiente en múltiples procesos en distintas etapas y tejidos del vegetal y bajo distintas condiciones ambientales (Ku et al., 2018; Yang et al., 2019; Yu et al., 2019; Cortleven et al., 2019).

La respuesta a las auxinas y citocininas en células vegetales ha mostrado efectos antagónicos, aditivos y sinérgicos en el desarrollo vegetal (Kurepa et al., 2019; Khatri et al., 2019; Lakehal & Bellini, 2019), lo que da a entender que la respuesta no solo es dependiente de las concentraciones aplicadas sino también del momento y del tipo de tejido, existiendo puntos que vinculan la acción de dos o más hormonas, formando así complejas redes que aun hoy en día faltan dilucidar.

Las auxinas son reguladores del crecimiento que actúan en bajas concentraciones del orden 0,1-10 μM , siendo el ácido indol-3-acético, el 4-cloro-AIA y el ácido indol-3-butírico las formas más comunes en la naturaleza. Estos ácidos débiles suelen estar conjugados reversiblemente con otros compuestos formando ésteres, amidas o glicosil ésteres, siendo este un mecanismo para regular los niveles y actividad de las auxinas (George et al., 2008a).

En *Arabidopsis* se han descrito tres vías de síntesis de auxinas dependientes del triptófano (Zhao, 2010) y una independiente (Wang et al., 2015). Los sitios de síntesis más importantes son las hojas jóvenes (Paque & Weijers, 2016) donde promueven la expansión celular (Du et al., 2020) y se mueven en larga distancia a través del floema hacia las raíces donde promueven la ramificación de las mismas (Wang & Jiao, 2018; Gomes & Scortecci, 2021). Su degradación se da por una vía con de-carboxilación oxidativa y otra oxidativa sin de-

carboxilación. El transporte a larga distancia de las formas disociadas y no disociadas (AIA- e AIAH respectivamente) se produce a través del floema en sentido basípeto y el transporte célula a célula de manera activa es polar y unidireccional debido a la ubicación asimétrica en las células de los transportadores proteicos de eflujo de la familia PIN y PGP, y los de importación de la familia AUX1/LAX los cuales se encuentran en las células parenquimáticas de la vaina que rodea el tejido vascular diferenciado. La entrada puede darse de manera pasiva por difusión (George et al., 2008a).

Durante mucho tiempo, para caracterizar la dinámica de las auxinas, se utilizaron inhibidores de su transporte, entre ellos la fitotropina ácido N-1-naftilftalámico (NPA), el cual bloquea las primeras divisiones celulares trasversales en la raíz (Singh et al., 2020; Seo et al., 2021) y el ácido aromático débil, ácido 2,3,5-triyodobenzoico (TIBA) que disturba el movimiento de vesículas que contienen transportadores de auxinas hacia y desde las membranas celulares (Soeno et al., 2021).

Estos potentes inhibidores han demostrado interrumpir el flujo de auxinas en poco tiempo y aunque hoy en día no está claro el sitio de unión de cada uno en el complejo de transporte, está comprobado que interrumpen en pocos minutos el transporte polar de las auxinas al interferir con las proteínas exportadoras de la familia PIN y ABCB y la entrada de auxinas afectando las proteínas de entrada AUX1/LAX (Teale & Palme, 2018).

Por otro lado, se ha demostrado que el ácido 2, 3, 5-triyodobenzoico (TIBA) puede movilizarse acrópeta y basípetamente por transporte polar mientras que el ácido N-1-naftilftalámico (NPA) no (Thomson et al., 1973). Saniewski et al. (2017) determinaron que en *Bryophyllum calycinum* Salisb. TIBA inhibía la formación de raíces mientras que NPA no cuando se aplicaron en tallos debajo de las hojas. Rahman et al. (2007) reportaron que plántulas de *Arabidopsis Thaliana* en un medio con TIBA, tenían menor crecimiento de la raíz primaria dado por una reducción en la longitud de la zona de crecimiento radical, además que se afectó la organización de los filamentos de actina. Tratamientos con NPA disminuyeron la división celular en la zona radical causando la despolimerización de la actina y disminución del flujo citoplasmático sin afectar la localización de las proteínas PIN. La pérdida de las redes de actina perjudicaría el ciclado de los transportadores PIN, transporte de auxinas y en última instancia la respuesta a dicha hormona.

Se han indicado efectos opuestos (Kurepa et al., 2019) y en el mismo sentido (Molinari et al., 2020) del balance de auxinas y citocininas en los distintos tejidos y momentos de desarrollo del vegetal. Por un lado las citocininas inhiben el crecimiento radical a través de su efecto sobre la división y diferenciación celular en el ápice y periciclo de la raíz principal (Gonin et al., 2019), mientras que las auxinas aumentan la biomasa radical promoviendo su ramificación (Gomes & Scortecci., 2021). Molinari et al. (2020) sugirieron para *Impatiens hawkeri* que no había inhibición en la producción de citocininas en los ápices de las raíces por parte de las auxinas con lo cual ambas hormonas estarían actuando en la misma secuencia de eventos asociada al desarrollo de nuevas raíces laterales. En *Arabidopsis* durante la embriogénesis temprana, en la línea de células basales de las células fundadoras, las auxinas antagonizan la señalización de las citocininas activando los represores de la señalización de citocininas ARR7 y ARR15 (ARRs tipo A) para así mantener la actividad del nicho de células madre de la raíz (Müller et al., 2008).

En los meristemas apicales aéreos se ha demostrado que bajos niveles de auxinas generados por mutantes de síntesis de auxinas (yucca), de transportadores (pin1, pinoid) o por el uso de NPA, llevan a un incremento de los factores ARR7 y ARR15 (Zhao et al., 2010). Por otro lado las auxinas suprimen la expresión del gen SHOOTSTEMLESS (STM) el cual promueve la síntesis de citocininas en los meristemas apicales aéreos (Chung et al., 2019). Otra vía a través de la cual las auxinas median la señalización de citocininas se identificó con los mutantes *mp* en *Arabidopsis thaliana* donde el gen MP limita la expresión de ARR7 y ARR15 en la zona central del meristema apical aéreo (Zhao et al., 2010). Además, las auxinas reducen los niveles de citocininas en los sitios de iniciación de órganos en el meristema apical aéreo embrionario y en el meristema de la inflorescencia (Wolters et al., 2009).

En maíz, mutaciones en el gen ABERRANT PHYLLLOTAXY1 (ABPH1) que codifica para el factor de transcripción de la vía de síntesis de auxinas ARR tipo A generó un tamaño de meristema apical aéreo menor y filotaxis alterada. Como PIN1 tiene expresión reducida en *abph1*, el gen ABPH1 podría ser un punto de convergencia entre la señalización de auxinas y citocininas (Yang et al., 2015; Giulini et al., 2004).

Adicionalmente las auxinas antagonizan a las citocininas en la actividad de yemas laterales, en arvejas está demostrado como el flujo basípeto de auxinas mediado por PsPINs

desde el ápice aéreo, reprime la expresión de PsIPT, enzima asociada a la síntesis de citocininas (Shimizu-Sato et al., 2009) que refuerza la dominancia apical.

La interacción auxina-citocininas también controla el desarrollo de los meristemas radicales (Jing & Strader, 2019; Liu et al., 2017; Dello Ioio et al., 2007). Dello Ioio et al. (2008), Moubayidin et al. (2009) y Li et al. (2020) han indicado en un marco genético la acción antagónica de estas hormonas sobre la división y diferenciación celular en el meristema de la raíz, dicha regulación es ejercida a través de la vía SHORT HYPOCOTYL 2 (SHY2/IAA3). En la porción vascular de la zona de transición del meristema de la raíz la expresión de SHY2 es incrementada por aplicaciones de citocininas, una respuesta mediada por ARR1, componente de la vía de señalización de la hormona. Aumentos en los niveles de expresión de SHY2 resultan en una represión de la transcripción de los genes PIN en la zona de transición del meristema radical, los cuales están involucrados en la redistribución de auxinas (Dello Ioio et al., 2008; Moubayidin et al., 2009). Contrariamente, las auxinas degradan a SHY2 requisito para la expresión de PIN (Dello Ioio et al., 2008) y una óptima distribución de auxinas y división y expansión de las células del meristema radical.

Las auxinas y citocininas interactúan antagónicamente para controlar el balance entre la diferenciación y división celular en el tejido vascular de la zona de transición de los meristemas de las raíces (Dello Ioio et al., 2008; Moubayidin et al., 2009). Por otro lado Jones et al. (2010) indicaron que una aplicación ectópica de citocininas promovía la biosíntesis de auxinas en raíces y vástagos jóvenes, en contraste, bajos niveles de citocininas reprimían la síntesis de auxinas. Estas respuestas permitieron proponer un modelo en el que las citocininas funcionan como regulador positivo de la síntesis de auxinas, y al contrario las auxinas reprimen la síntesis de citocininas tanto en tallos como en raíces jóvenes. Además, está bien documentada la interacción antagónica entre estas hormonas en el desarrollo y crecimiento de raíces laterales, las citocininas antagonizan a las auxinas promoviendo la degradación de los transportadores PIN con lo cual se perjudica la distribución de auxinas, la formación de sitios de pre-ramificación, la iniciación, y la emergencia de raíces laterales (Jing & Strader, 2019).

Sin embargo, en la especie ornamental *Epipremnum aureum* (Di Benedetto et al., 2015b) la aplicación exógena de 50 mg L⁻¹ de AIA y BAP en esquejes enraizados, produjo un aumento significativo en el peso en fresco de raíces, hojas y tallos después de 70 días del tratamiento siendo menos efectivas las aplicaciones conjuntas que individuales o secuenciales. Después de

90 días de los tratamientos, el área foliar total y el número de hojas fue mayor tanto con auxinas como con citocininas en dosis de 50 mg L^{-1} comparado con el testigo. La RLA estimada durante el experimento también fue mayor para ambos casos comparados con el testigo. Al analizar los estimadores de crecimiento para cada regulador hormonal, estos autores encontraron un aumento en la RGR y la RLAER, mientras que las aplicaciones sucesivas de cada hormona no tuvieron efectos aditivos positivos. La tasa fotosintética también fue mayor con ambas aplicaciones respecto al testigo con mayores tasas cuando se aplicó AIA. Correlacionado con este resultado se observó mayor espesor de la epidermis y el tamaño del poro estomático. Esta evidencia demuestra que a nivel anatómico, morfológico y fisiológico la respuesta al tratamiento exógeno con ambas hormonas fue en el mismo sentido separándose de la respuesta que analiza solo el resultado a nivel biomolecular o celular en un determinado tejido.

1.4 Sistema flotante

La hipótesis que involucra a las citocininas en la restricción radical ha sido validada con la aplicación de citocininas sintéticas y constituye una alternativa a la disminución del número de células en la bandeja multicelda para reducir parcialmente la restricción radical (Di Benedetto et al., 2020a, b). Como una nueva alternativa para reducir este estrés abiótico surge el sistema flotante.

Los sistemas hidropónicos se definen clásicamente como cultivos sin suelo y son una tecnología que intensifica aún más las producciones comerciales. En numerosos cultivos hortícolas se han encontrado mayores rendimientos en los distintos órganos cosechables principalmente cuando se trata de hojas (Cristofano et al., 2021; Tsouvaltzis et al., 2020; De Melo et al., 2020; Giménez et al., 2019, 2020; Siaga et al., 2018; Öztekin et al., 2018, Özer, 2018; Alvarado-Camarillo et al., 2020; Karnoutsos et al., 2021; Nicola & Ertani et al., 2021; Moncada et al., 2018; Bantis et al., 2021).

Sin embargo en los cultivos ornamentales los aspectos estéticos son tan importantes como el rendimiento comercial. En estos cultivos, el sistema flotante no ha sido exhaustivamente analizado y existen datos solo para unas pocas especies ornamentales entre herbáceas y flores de corte (Barbaro et al., 2009, 2015, 2017; Delucchi et al., 2013).

Los sistemas hidropónicos se clasifican en sistemas circulantes y estáticos. Entre los primeros se pueden encontrar distintas opciones:

- a) NFT: (por sus iniciales en inglés “Nutrient Film Techique”): es uno de los métodos que mayor inversión inicial requiere. Fue desarrollado en la década de 1960 por el Dr. Allen Cooper en Inglaterra. Está formado por cañerías donde fluye de manera constante los nutrientes que son tomados por las plantas que están ubicadas sobre las cañerías en algún soporte para que se desarrolle el sistema radical. Requiere un tanque de dimensiones proporcionales a la cantidad de plantas, un sistema de bombeo y una red de distribución y cañería colectora y puede estar altamente automatizado. Es utilizado para amplia variedad de cultivos intensivos, sobre todo los de ciclo prolongado (Jones Jr., 2014; Jan et al., 2020; Swain et al., 2021).

- b) DFT (por sus iniciales en inglés “Deep Flow Technique”): es un sistema híbrido entre el NFT y los estáticos. Consta de una plancha de poli-estireno expandido que contiene las plantas, ubicada en un bastidor o largos canales que contienen los nutrientes, el agua es impulsada por una bomba entrando en cascada hacia la pileta produciendo la recirculación y aireación del medio (Blok, 2016; Swain et al., 2021).

- c) EF (inundación y drenaje) (por sus iniciales en inglés “Ebb and Flow”): está formado por un medio que estabiliza a la planta, el agua con los nutrientes es bombeada a una gran bandeja de crecimiento que contiene las plantas y luego de un tiempo es drenada por gravedad hacia el depósito. Requiere de una bomba, un tanque y un sistema de distribución, el tiempo de mojado y drenado va a depender del cultivo y tipo de sustrato utilizado como soporte (Jones Jr., 2014; Jan et al., 2020; Swain et al., 2021).

Los sistemas estáticos incluyen:

- a) FR (raíz flotante) (por sus iniciales en inglés “Floating Raft”): es uno de los más sencillos, consta de un bastidor de dimensiones variables cubierto de polietileno negro que contiene la solución nutritiva. Se utilizan planchas de poli-estireno expandido con perforaciones simétricas donde se colocan los contenedores de rejilla con una esponja de espuma de polietileno de baja densidad. Es indispensable la aireación de la solución de manera continua para mantener en buen estado las raíces. Requiere monitoreo y un cambio o adición relativamente frecuente de solución nutritiva (Jan et al., 2020; Swain et al., 2021).

- b) Bandejas flotantes (Floating Trays, Floating System o Wick System): es el método más sencillo, consta de bandejas multicelda de poli-estireno expandido de número de celdas variables con sustrato, la cual flota parcialmente sumergida en una pileta que contiene entre 5-10 cm de solución nutritiva, ascendiendo los nutrientes a través de la misma por capilaridad (Khan, 2018). Se utiliza para cultivos de ciclo corto y puede cumplir con sus objetivos con sólo una adición de nutrientes. La oxigenación se lleva a cabo en la celda la cual intercambia oxígeno con el ambiente, aunque la oxigenación activa puede favorecer la emergencia de raíces por fuera de la celda (Jan et al., 2020; Swain et al., 2021; Kanatas, 2020). Muy generalizado en el cultivo de tabaco pero también implementado en algunas hortícolas, aromáticas (Kanatas, 2020) y ornamentales (Maharana & Koul, 2011).

Es en el uso del sistema de bandejas flotantes, donde se logran mayores eficiencias de producción para tabaco (Pearce, 2008; Kabranova et al., 2014), hortalizas (Carrasco et al., 2003; Jakše et al., 2013; Anver et al., 2005; Özer, 2018; Öztekin et al., 2018; Siaga et al., 2018; Giménez et al., 2019, 2020; De Melo et al., 2020; Kanatas, 2020; Monteiro et al., 2020; Tsouvaltzis et al., 2020; Cristofano et al., 2021; Bantis et al., 2021), flores de corte (Zanin et al., 2003; Barbaro et al., 2017) y plantas aromáticas y medicinales (Aktsoğlu et al., 2021; Akoumianaki-Ioannidou et al., 2015) y constituye una alternativa para la propagación en sistemas tradicionales. Sin embargo, casi no existen estudios en especies ornamentales herbáceas que intenten explicar los mecanismos fisiológicos implicados en los cambios observados en la etapa de propagación frente a una restricción radical en la bandeja multicelda, ni su efecto durante el pos-trasplante (Cros et al., 2007).

Barbaro et al. (2009) encontró un aumento del 79% y 73% en los pesos frescos aéreo y radical respectivamente, situación que se mantuvo en las distintas fechas evaluadas excepto en la materia seca radical de la primera cosecha donde no se observaron diferencias en plantas de *Eustoma grandiflorum* L. cultivadas en un sistema flotante. En este experimento se logró mayor número de hojas expandidas. Por otro lado, no se registraron diferencias en los porcentajes de germinación y los plantines obtenidos para trasplante. En *Petunia hybrida*, cuando las plantas tenían de 4 a 5 hojas verdaderas expandidas se registraron diferencias significativas en materia seca aérea y tamaño de hoja en el sistema flotante respecto el convencional pero no en materia seca de raíces (Barbaro et al., 2015).

De la misma manera, Delucchi et al. (2013), en *Petunia hybrida*, obtuvieron una mayor materia fresca total, aérea, radical y mayor materia seca aérea y total, pero sin diferencias en materia seca subterránea en el sistema flotante. En el mismo ensayo, sobre plantas de *Disianthus chinensis*, se observaron resultados a favor del sistema flotante en lo que respecta a materia fresca radical y seca total, aérea y radical. Estos autores atribuyeron estos cambios exclusivamente a la disponibilidad continua de agua y nutrientes que asciende por capilaridad en el sistema flotante, comparado con el método convencional donde se produce un lavado continuo del sustrato y sus nutrientes por la acción del riego. Sin embargo no se consideró la menor restricción al crecimiento radical que se obtiene cuando el extremo de la raíz principal puede emerger hacia la solución de crecimiento, asumiendo que hay una señalización hormonal negativa desde las raíces cuando las plantas crecen en contenedores de volumen limitado. Es de esperar que este sistema contribuya a superar el síndrome de restricción radical, donde se afecta tanto la elongación apical como la ramificación y sea una alternativa razonable para lograr mayor crecimiento en la etapa de propagación.

Los diferentes sistemas de propagación tienen ventajas y desventajas desde el punto de vista tecnológico. El sistema de bandejas flotantes provee una mayor sencillez de construcción y manejo que los sistemas hidropónicos más complejos (sistemas abiertos). En *Lactuca sativa* originó resultados similares y hasta ligeramente superiores en cuanto a productividad con mayores eficiencias de uso del agua y nutrientes (Abd-Elmoniem Essam et al., 2006; Lennard et al., 2006).

Con los sistemas estáticos, el consumo de energía eléctrica es menor al no requerir sistemas de bombeo de agua y nutrientes (Khan, 2018), la aireación se lleva a cabo en la zona de capilaridad de la celda y además no requiere un sistema de monitoreo complejo como las demás técnicas hidropónicas (Elegado, 2022).

Respecto al sistema tradicional de conducción de bandejas multicelda sobre tarimas o mesadas, se reducen las labores de riego y fertilización, ya que basta una aplicación de nutrientes para que la planta complete no solo su ciclo hasta el momento de trasplante sino hasta completar su ciclo productivo (Kratky et al., 2004). Sin embargo, se torna más complejo manejar los desbalances nutricionales de la solución de crecimiento (Cho et al., 2018). La labor

de riego queda excluida y se evitan los problemas de riegos des-uniformes y además se evita el mojado del follaje y la potencial incidencia de enfermedades foliares (Norden et al., 2008).

Una desventaja de manejo en bandejas flotantes es la dificultad para realizar el trasplante ya que se producen daños a las raíces cuando estas emergieron del soporte o bandeja (Barbaro et al., 2017). Este último autor determinó un mejor comportamiento pos-trasplante del plantín al realizar una poda química con hidróxido de cobre aplicado junto con la solución fertilizante con lo cual disminuyó el daño y la posible entrada de patógenos. Si bien el consumo de energía en un sistema flotante es bajo, Karnoutsos et al. (2021) determinaron en *Lactuca sativa* L. y *Eruca sativa* M. que la regulación de la temperatura de la solución de crecimiento en la zona de la raíz en el sistema flotante afectó el rendimiento de ambos cultivos en condiciones ambientales extremas de temperatura del aire.

1.5 Objetivos

- a) Describir la dinámica de crecimiento pre- y pos-trasplante de plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en bandejas multicelda con diferentes número de celdas y bajo dos sistemas de conducción pre-trasplante: un sistema tradicional con las bandejas sobre tarimas fijas y un sistema flotante con las mismas bandejas sobre una solución nutritiva (con las raíces emergiendo por el orificio de drenaje y sin restricciones al crecimiento en el medio líquido).
- b) Evaluar el efecto del asperjado exógeno con auxinas (AIA) sobre la acumulación de biomasa total y los estimadores de crecimiento.
- c) Cuantificar el impacto del uso de inhibidores del transporte de auxinas (NPA-TIBA) y de la síntesis de citocininas (dopamina) para describir los efectos negativos en de una deficiencia endógena de esta hormona sobre la acumulación de biomasa en *Impatiens walleriana*.
- d) Identificar cuali- y cuantitativamente los procesos involucrados en la expansión de área foliar (número y tamaño de hojas), la capacidad de acumulación de foto-asimilados de la planta (tasa fotosintética, espesor foliar, tasa de asimilación neta) y la partición de los mismos entre las raíces y la parte aérea.

1.6 Hipótesis

- a) El uso de bandejas con diferente número de celdas establece una limitante al crecimiento radical. La reducción del crecimiento radical en los sistemas de conducción tradicionales puede atemperarse o eliminarse con el uso de bandejas flotantes a partir de menores restricciones físicas para la ramificación del sistema radical.

a2) La producción de biomasa aérea pos-trasplante está determinada por el crecimiento del sistema radical pre-trasplante.
- b) El asperjado pre-trasplante con AIA es capaz de superar el efecto de una restricción radical en la bandeja multicelda, aunque tiene poco impacto positivo (y eventualmente negativo) sobre las plantas conducidas en sistemas de bandejas flotantes.
- c) Una disminución de las concentraciones endógenas de auxinas y citocininas por el uso de inhibidores del transporte de dichas hormonas reduce la acumulación de biomasa total.
- d) La restricción al crecimiento radical afecta la expansión del área foliar fotosintetizante a través del tamaño de cada hoja individual y de la tasa de aparición de hojas. La acumulación de peso fresco-seco se ve afectada por una reducción de la tasa fotosintética y por una mayor partición de los foto-asimilados producidos hacia el sistema radical.

CAPÍTULO 2 - MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento fue realizado en la Cátedra de Floricultura (Facultad de Agronomía, UBA) (34° 35' 59'' S, 58° 22' 23'' W) desde el 03/12/19 hasta el 11/02/20 y se repitió el 1/12/21 hasta el 11/02/22. Las temperaturas diarias (18,27-25,18°C) y la radiación fotosintéticamente activa (4,24-6,14 mol fotones m² día⁻¹) para los experimentos se registraron utilizando un sensor HOBO (H08-004-02) conectado a un data logger HOBO H8.

Las semillas de *Impatiens walleriana* Super Elfin® XP White (Panamerican Seed), fueron germinadas en cámara de germinación y mantenidas hasta el trasplante en un sustrato GrowMix® Multipro. Las bandejas utilizadas tenían 50, 128, 288 y 512 celdas por bandeja y su volumen era de 55,70, 17,37, 6,18 y 2,50 cm³ celda⁻¹ respectivamente. A su vez las bandejas del sistema flotante fueron colocadas sobre placas de poli-estireno expandido de 52,4 cm x 24,4 cm y 2 cm de espesor, cada una con un número de perforaciones igual al número de celdas de la bandeja que soportaba.

Tanto en el sistema de bandejas flotantes como en el convencional se trataron lotes con: AIA (ácido indolacético, 100 mg L⁻¹ hasta goteo) (SIGMA EC 201-748-2), NPA (ácido 1-N-naftiltalámico 50 mg L⁻¹), TIBA (ácido 2,3,5-triyodobenzoico 5 mg L⁻¹) y dopamina (200 mg L⁻¹) al momento que la plántula tenía expandida el segundo par de hojas verdaderas, cuando las plantas alcanzaron el tamaño de trasplante fueron trasladadas a macetas de 1.200 cm³ con un sustrato compuesto por resaca de río, turba de *Sphagnum maguellanicum* y perlita (40-40-20, v/v/v).

El esquema experimental que se muestra en la Figura 2 permite visualizar los diferentes sistemas de siembra-conducción (tradicional sobre mesadas y flotante (Figuras 2A y B respectivamente), el estadio de asperjado de AIA, NPA, TIBA y dopamina (Figura 2C), y la conducción pos-trasplante inicialmente a lo que se denomina “cantero cerrado” (Figura 2D) y con posterioridad con mayor separación para evitar el sombreado entre plantas vecinas (Figura 2E).

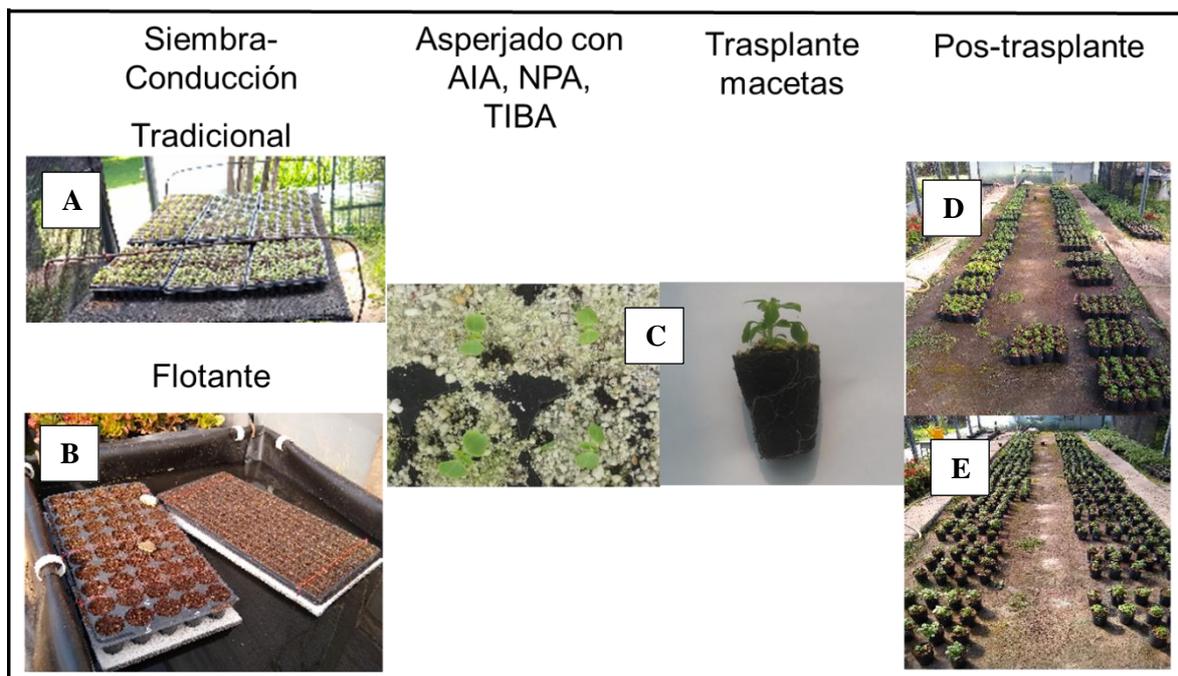


Figura 2. Esquema experimental implementado: Sistema tradicional (A); Sistema flotante (B); Estadío de aplicación de AIA, NPA, TIBA y dopamina (C); Conducción pos-trasplante a cantero cerrado (D); Conducción pos-trasplante a cantero abierto (E).

Tanto la fertilización en el sistema flotante como en el tradicional se realizó con un fertilizante soluble (Hakaphos® Rojo 18-18-18, N-P₂O₅-K₂O) según las dosis recomendadas por Styer & Koranski (1997), quien sugirió dividir la etapa de propagación en cuatro estadíos:

- Estadío 1: desde siembra hasta aparición de radícula
- Estadío 2: desde la aparición de la radícula hasta la aparición de los cotiledones
- Estadío 3: desde la aparición de los cotiledones hasta la expansión del primer par de hojas verdaderas
- Estadío 4: desde la expansión de las hojas verdaderas hasta el trasplante.

Durante el estadío 1, se agregaron 50 - 22 - 41,5 mg L⁻¹ de N-P-K una vez por semana; para el estadío 2, 50 - 22 - 41,5 mg L⁻¹ de N-P-K dos veces por semana; para el estadío 3, 100 - 33 - 62,3 mg L⁻¹ de N-P-K dos veces por semana y para el estadío 4, 150 - 66 - 124,5 mg L⁻¹ de N-P-K dos veces por semana. El sistema flotante fue provisto de oxigenación continua mediante un burbujeador.

Se realizó una cosecha en el momento del trasplante y tres cosechas adicionales cada 20 días, registrándose en cada oportunidad el peso en fresco de tallos, hojas, raíces y flores. Se

sometió cada órgano a un secado a 80°C durante 96 horas. Se determinó el número de hojas por planta y el área foliar de cada hoja se estimó con el software ImageJ®.

La productividad a nivel planta aislada y sus variables relacionadas fueron calculadas según lo planteado por Di Benedetto & Tognetti (2016):

La tasa de crecimiento relativo RGR ($\text{g g}^{-1} \text{ día}^{-1}$) (por sus iniciales en inglés “Relative Growth Rate”) fue determinada como la pendiente (k_w) de la recta de regresión que surge de graficar el logaritmo natural del peso seco (W) de cada observación en las diferentes cosechas, en función de los días desde la siembra (t) según la siguiente relación:

$$RGR = \frac{1}{W} \frac{dW}{dt}$$

La tasa de expansión foliar relativa RLAER ($\text{cm}^2 \text{ cm}^{-2} \text{ día}^{-1}$) (por sus iniciales en inglés “Relative Leaf Area Expansión Rate”) fue calculada como la pendiente (k_a) de la recta de regresión del logaritmo natural del área foliar total por planta (A) de cada observación en las diferentes cosechas en función del tiempo desde el inicio del experimento, según la siguiente relación:

$$RLAE = \frac{1}{A} \frac{dA}{dt}$$

La tasa de aparición de hojas RLA (hojas día^{-1}) (por sus iniciales en inglés “Rate of Leaf Appearance”) es la pendiente de la recta de regresión que surge de graficar el número de hojas en función del tiempo desde la siembra reflejada en la siguiente relación:

$$RLA = \frac{d\text{hojas}}{dt}$$

La tasa de asimilación neta NAR ($\text{g cm}^{-2} \text{ día}^{-1}$) (por sus iniciales en inglés “Net Assimilation Rate”) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$NAR = \frac{k_w W_0 e^{k_w t}}{A_0 e^{k_a t}}$$

Donde W_0 es la ordenada de origen de la línea de regresión que relaciona el peso seco total en el momento cero del cálculo (g), A_0 es la ordenada de origen de la línea de regresión que relaciona el área foliar total en el momento cero del cálculo (cm^2) y e , es la base de los logaritmos naturales.

La relación de área foliar LAR ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) (por sus iniciales en inglés “Leaf Area Ratio”) se determinó a partir de la siguiente ecuación:

$$LAR = K_a / \frac{A_0 e^{k_a t}}{k_w W_0 e^{k_w t}}$$

Donde W_0 es la ordenada de origen de la línea de regresión que relaciona el peso seco total en el momento cero del cálculo (g), A_0 es la ordenada de origen de la línea de regresión que relaciona el área foliar total en el momento cero del cálculo (cm^2) y e , es la base de los logaritmos naturales.

El área foliar específica SLA ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) (por sus iniciales en inglés “Specific Leaf Area”) se determinó a partir de la siguiente relación:

$$SLA = \frac{A}{W}$$

Donde A corresponde al área foliar individual y W al peso foliar individual sobre una base de peso seco.

La relación de peso foliar LWR (g g^{-1}) (por sus iniciales en inglés “Leaf Weight Ratio”) se calculó a través del cociente entre la masa foliar y la masa total de la planta sobre una base de peso seco.

$$LWR = \frac{W_{foliar}}{W_{total}}$$

Las relaciones alométricas entre raíces y parte aérea, y entre hojas y tallo (coeficiente β) fueron determinadas como la pendiente de la recta que relaciona dichos valores de peso seco transformados logarítmicamente.

La relación raíz/parte aérea se determinó a partir del peso seco de las raíces y los órganos aéreos de cada cosecha particular.

El experimento se ajustó a un arreglo factorial de tres factores (sistema de propagación - tamaño de celda - asperjado con reguladores de crecimiento) con 2, 4 y 5 niveles respectivamente. Un total de 40 tratamientos asignados de manera completamente aleatoria a las unidades experimentales. Los datos, excepto RGR, NAR, LAR, RLAER, RLA, SLA, LWR y el coeficiente β , fueron analizados mediante Infostat® y sometidos a un análisis de varianza ANOVA con un nivel de significación de 0,05. Asimismo se validaron los supuestos del análisis de varianza. Las comparaciones se realizaron mediante el test LSD de Fischer con el nivel de significación mencionado. Los valores de las pendientes de las regresiones fueron contrastados mediante el paquete estadístico SMATR (Warton et al., 2012). Dado que las diferencias entre ambos experimentos fueron mínimas, los resultados se expresaron en forma combinada.

CAPÍTULO 3

Comparación de la propagación en bandejas multicelda con y sin sistema flotante.

3.1. INTRODUCCIÓN

La productividad de las plantas propagadas en bandejas multicelda se relaciona positivamente con el medio ambiente, pero se ve afectada negativamente por la restricción radical que se genera (Di Benedetto et al., 2020a). La raíz pivotante se atrofia y el desarrollo pos-trasplante del sistema radical se realiza a través de raíces adventicias. Se ha documentado que la restricción radical es el estrés físico impuesto al sistema de raíces cuando las plantas se cultivan en recipientes pequeños y conduce a una disminución pronunciada en el crecimiento de raíces y brotes tanto en la etapa de trasplante como durante el pos-trasplante (Di Benedetto et al., 2020a).

Partiendo del supuesto de que las respuestas de las plantas se asocian principalmente con una señalización hormonal negativa de las raíces cuando crecen en un volumen limitado, se han propuesto varias estrategias para optimizar el crecimiento de las plantas (De Lojo et al., 2017, 2019a, b). Debido a que el síndrome de la restricción radical parece estar relacionado con una disminución tanto en la elongación apical como en la ramificación de la raíz, el crecimiento de las plántulas en un sistema de bandejas multicelda flotante sería una alternativa razonable para aumentar la productividad pre- y pos-trasplante.

El sistema flotante tiene muchas ventajas, como su simplicidad, funcionalidad, bajo costo operativo, alta densidad de plantas y producción temprana, uso óptimo de agua y nutrientes y estandarización de la producción a escala industrial. Sin embargo, los datos sobre la eficiencia comparativa del crecimiento de los sistemas flotantes y tradicionales de producción en bandejas multicelda son escasos y se limitan a hortalizas tales como pimiento, tomate y lechuga (Siaga et al., 2018; Özer, 2018; Giménez et al., 2020).

En todos los informes publicados, las respuestas estudiadas se han limitado al rendimiento, la longitud de la raíz, el peso fresco de la raíz, la altura del tallo, el peso fresco y el diámetro del tallo, el número de hojas por planta, el peso fresco de las hojas y el peso fresco total de la planta. Falta un enfoque basado en el análisis del crecimiento y los mecanismos fisiológicos involucrados.

Por lo tanto, el primer objetivo de mi proyecto fue evaluar la acumulación de biomasa pre-trasplante en plantas cultivadas en diferentes volúmenes de celdas y la respuesta a dos sistemas de propagación (bandejas multicelda sobre mesadas y un sistema flotante) en la especie ornamental *Impatiens walleriana*.

3.2. RESULTADOS

Cuando se analizó el peso fresco total de plantas de *I. walleriana* al momento de trasplante (Figura 3.1) se pudo observar tanto en aquellas provenientes del sistema flotante como del tradicional, una disminución a medida que aumentaba el número de celdas por bandeja, sin embargo, estadísticamente, en el sistema tradicional no hubo distinción entre bandejas de 512, 288 celdas y entre bandejas de 50 y 128 celdas.

Comparando entre sistemas, en general las plantas provenientes del sistema flotante presentaron un mayor peso fresco total al momento del trasplante, contando con diferencias estadísticamente significativas en bandejas de 288 y 50 celdas.

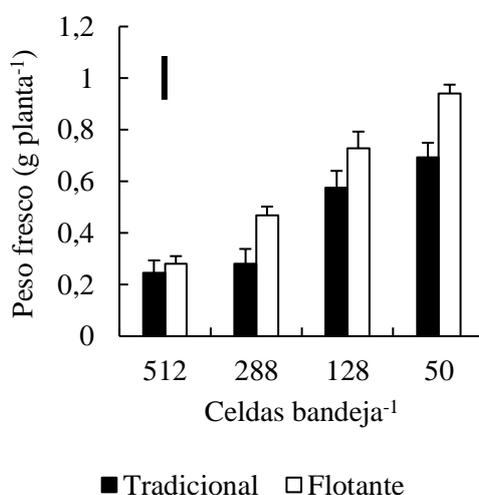


Figura 3.1. Efecto del número de celdas por bandeja y del sistema de propagación sobre la acumulación de peso fresco total en plantas de *Impatiens walleriana* en el momento del trasplante. Sobre cada barra se indica el error estándar del peso fresco total. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Peso fresco total}} = 0,169 \text{ g planta}^{-1}$.

Esta tendencia entre bandejas con distintos números de celdas se mantuvo al analizar la acumulación de biomasa sobre una base de peso seco pero solo para plantas provenientes del sistema tradicional (Figura 3.2A), ya que aquellas provenientes del sistema flotante no

presentaron diferencias significativas entre bandejas de 128, 288 y 50 celdas diferenciándose solo las plantas de bandejas de 512 celdas (Figura 3.2B).

Al analizar lo sucedido entre ambos sistemas, se encontraron marcadas diferencias en acumulación de materia seca total al momento de trasplante, a favor del sistema flotante para todos los tamaños de celda evaluados.

Observando la distribución de materia seca entre raíces y parte aérea (Figuras 3.2A y B) y comparando los pesos secos radicales de las plántulas provenientes de bandejas con diferente número de celdas al momento del trasplante, en el sistema tradicional se observó una tendencia decreciente a medida que disminuyó el volumen de celda, pero sin diferencias significativas entre las plantas provenientes de bandejas de 512 y 288 ni entre aquellas provenientes de bandejas de 128 y 50 celdas, pero sí entre ambos grupos.

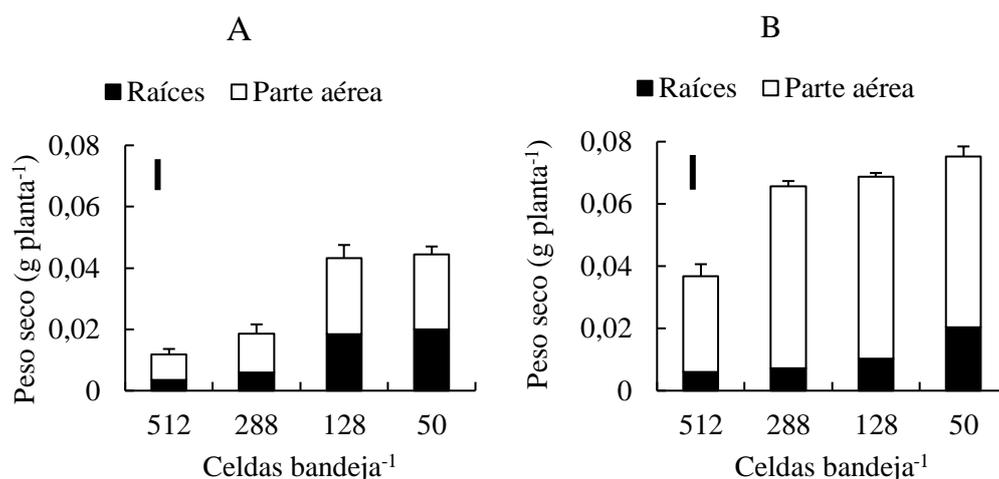


Figura 3.2. Efecto del número de celdas por bandeja sobre la acumulación de peso seco en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas a través de un sistema tradicional (A) o en bandejas flotantes (B). Sobre cada barra se grafica el error estándar del peso seco total. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Peso seco total - Tradicional}} = 0,00999 \text{ g planta}^{-1}$ y $DMS_{\text{Peso seco total - Flotante}} = 0,011 \text{ g planta}^{-1}$.

En el sistema flotante solo se diferenció el tratamiento correspondiente a bandejas de 50 celdas, mientras que plantas provenientes de bandejas de 128, 288 y 512 celdas no presentaron diferencias significativas en el peso seco de raíces. La materia seca de los órganos aéreos en las plantas del sistema tradicional se comportó de igual manera que el peso seco de las raíces,

habiendo diferencias solo entre los grupos de plantas provenientes de bandejas con 512 o 288 celdas y los de 50 o 128 celdas.

Esta variable en el sistema flotante no mostró respuesta al número de celdas por bandeja. Cuando se comparó el efecto del sistema de propagación sobre la materia seca radical no hubo diferencias claras entre los distintos tamaños de celda. Sin embargo, la materia seca aérea sí tuvo una clara respuesta al sistema de propagación, siendo mucho mayor en plantas del sistema flotante (Figura 3.2A).

De la misma manera que el peso fresco total, el área foliar tuvo un comportamiento descendente a medida que aumentaba el número de celdas por bandeja para ambos sistemas (Figura 3.3). Exceptuando las bandejas con 288 y 128 celdas del sistema tradicional, que no se diferenciaron estadísticamente entre sí, el resto de las plantas presentaron diferencias significativas en superficie foliar total al momento del trasplante. La comparación entre sistemas arrojó diferencias significativas de área foliar a favor del sistema flotante para todos los tamaños de celda evaluados.

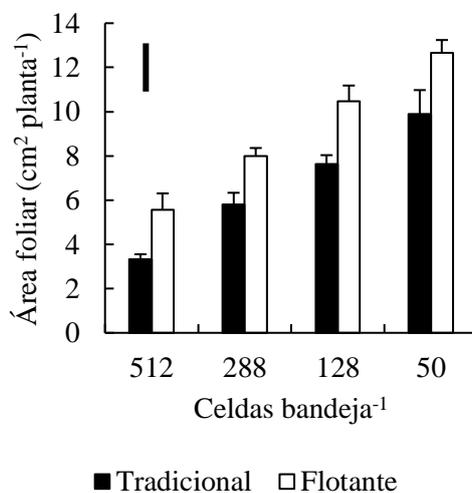


Figura 3.3. Efecto del número de celdas por bandeja y el sistema de propagación sobre la expansión de área foliar en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. Sobre cada barra se indica el error estándar del área foliar total. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Área foliar}} = 2,191 \text{ cm}^2 \text{ planta}^{-1}$.

La RGR calculada para toda la etapa de propagación (Cuadro 3.1) mostró valores significativamente mayores para plantas provenientes del sistema flotante, situación que se mantuvo para todos los números de celda por bandeja evaluados, variando entre un 15% y un

45%. Cuando se analizaron el componente fisiológico, NAR, y el componente morfológico, LAR, de la RGR, se obtuvieron mayores valores de NAR en plantas cultivadas en el sistema flotante para los cuatro números de celdas por bandeja evaluados. Las mayores diferencias de NAR entre sistemas se dieron en bandejas con 512 y 288 celdas (77% y 128% mayor respectivamente). En cuanto a LAR los menores valores, entre un 28% y un 45%, fueron encontrados en el sistema flotante para los cuatro números de celda por bandeja utilizados.

El efecto del tamaño de bandeja multicelda sobre la RGR fue significativo tanto en el sistema flotante como en el tradicional, encontrándose los mayores valores en bandejas de 50 y 128 celdas y los menores en bandejas de 288 y 512 celdas. Las mayores magnitudes de NAR se dieron en bandejas de 50 y 128 celdas, en ambos sistemas, mientras que LAR mostró los mayores valores en las bandejas de 50 celdas, y las menores magnitudes en las bandejas de 512, 288 celdas y 512 celdas para el sistema tradicional y flotante respectivamente.

Cuadro 3.1. Efecto del número de celdas por bandeja y el sistema de propagación sobre la tasa de crecimiento relativo (RGR), la tasa de asimilación neta (NAR) y la relación de área foliar (LAR) en plantas de *Impatiens walleriana* durante la fase de siembra-trasplante. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre bandejas con distinto número de celdas. La probabilidad que la pendiente de RGR sea cero fue $P < 0,001$.

Celdas bandeja ⁻¹	RGR (g g ⁻¹ día ⁻¹)		NAR (g cm ⁻² día ⁻¹) x 10 ⁻⁵		LAR (cm ² g ⁻¹)	
	Tradicional	Flotante	Tradicional	Flotante	Tradicional	Flotante
512	0,0701cB	0,1023dA	4,36cB	7,75dA	135,37cA	105,21cB
288	0,0887bB	0,1136cA	4,60bB	10,49cA	139,32cA	108,29bB
128	0,1066aB	0,1226bA	7,77aB	11,39bA	160,61bA	110,39bB
50	0,1082aB	0,1257aA	7,87aB	11,65aA	192,64aA	132,05aB

Se hallaron correlaciones positivas entre NAR y RGR en plantas provenientes del sistema tradicional ($r^2 = 0,857$; $P < 0,001$) y del sistema flotante ($r^2 = 0,949$; $P < 0,001$) (Figura 3.4A). Las relaciones NAR y RGR del sistema flotante se ubicaron en general por encima de las del sistema tradicional. Por otro lado LAR en función de RGR también arrojó correlaciones positivas entre ambas variables tanto en el sistema tradicional ($r^2 = 0,683$; $P < 0,001$) como en el flotante ($r^2 = 0,548$; $P < 0,001$) (Figura 3.4B). Los mayores valores de LAR se dieron en el

sistema tradicional pero en general a menor RGR. Las funciones ajustadas a cada tipo de sistema fueron significativamente distintas.

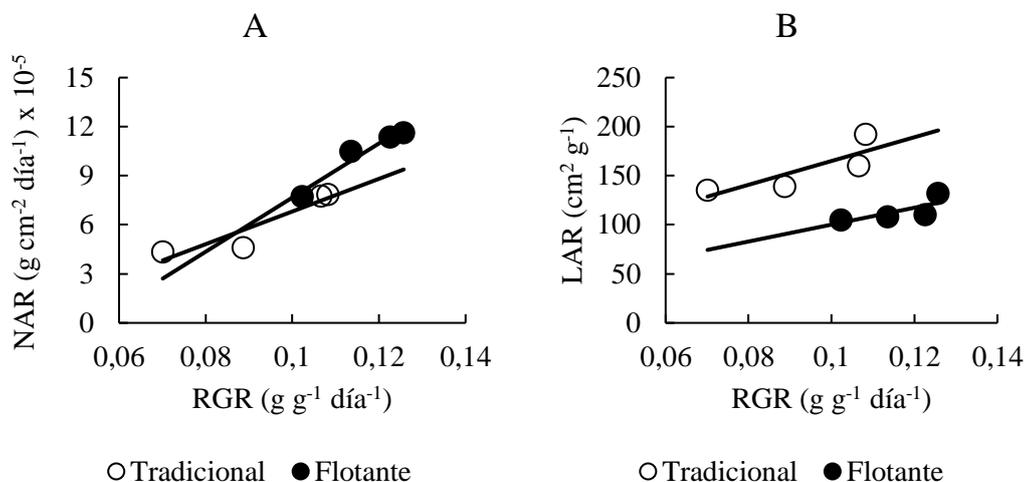


Figura 3.4. Relación entre la tasa de asimilación neta (NAR) (A), la relación de área foliar (LAR) (B) y la tasa de crecimiento relativo (RGR) para plantas de *Impatiens walleriana* cultivadas en un sistema tradicional (símbolos vacíos) y un sistema flotante (símbolos llenos) en bandejas con diferente número de celdas. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $NAR_{\text{Tradicional}} = 99,89 \text{ RGR} - 3,18$ ($r^2 = 0,857$; $P < 0,001$); $NAR_{\text{Flotante}} = 99,89 \text{ RGR} - 8,89$ ($r^2 = 0,949$; $P < 0,001$); $LAR_{\text{Tradicional}} = 1212,80 \text{ RGR} + 43,71$ ($r^2 = 0,683$; $P < 0,001$); $LAR_{\text{Flotante}} = 861,83 \text{ RGR} + 13,97$ ($r^2 = 0,548$; $P < 0,001$).

En el Cuadro 3.2 se ha cuantificado la aparición de hojas durante la etapa de propagación a través de RLA, que fue estadísticamente mayor (entre un 11% y un 30%) en las plantas provenientes del sistema flotante para los diferentes números de celdas por bandeja. El efecto del número de celdas por bandeja sobre la RLA fue significativo cuando se comparó entre los distintos tamaños de celdas, encontrándose los valores máximos de RLA en las bandejas de 50 celdas para ambos sistemas. Se verificó una tendencia decreciente de RLA a medida que disminuía el tamaño de la celda en la bandeja.

La expansión foliar, cuantificada a través de la RLAER, fue mayor en las plantas del sistema flotante excepto para las bandejas con 288 celdas donde el sistema de propagación no mostró impacto alguno. Las diferencias en RLAER a favor del sistema flotante oscilaron entre un 3% y un 20%. Los máximos resultados de RLAER se dieron en las bandejas de 50 celdas en ambos sistemas, y en general una disminución a medida que aumentaba el número de celdas (Cuadro 3.2).

En la Figura 3.5 se muestra una vista inferior de las bandejas multicelda y el comportamiento del sistema radical cuando la plántula creció en el sistema de propagación tradicional (A) y en el flotante (B). En el caso de la figura 3.5A las raíces no logran emerger a través del orificio de drenaje mientras que en la figura 3.5B, el sistema radical, si bien al comienzo ocupa la totalidad del volumen de la celda, a partir de ese momento comienza a emerger a través del orificio de drenaje de la bandeja flotante hacia la solución nutritiva.

Cuadro 3.2. Efecto del número de celdas por bandeja y el sistema de propagación sobre la tasa de aparición de hojas (RLA) y la tasa relativa de expansión foliar (RLAER) en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre las bandejas con diferente número de celdas. La probabilidad que la pendiente de RLA y RLAER sea cero fue $P < 0,001$.

Celdas bandeja ¹	RLA (hojas día ⁻¹)		RLAER (cm ² cm ⁻² día ⁻¹)	
	Tradicional	Flotante	Tradicional	Flotante
512	0,1235dB	0,1382cA	0,1130cB	0,1363cA
288	0,1297cB	0,1676bA	0,1356bA	0,1365cA
128	0,1568bB	0,1838aA	0,1388bB	0,1443bA
50	0,1622aB	0,1838aA	0,1416aB	0,1494aA



Figura 3.5. Efecto del sistema de propagación tradicional de bandejas multicelda (A) y un sistema flotante (B) sobre la apariencia de la raíz a través del orificio de drenaje en plántulas de *Impatiens walleriana*.

En la Figura 3.6A se pueden ver relaciones positivas entre RLA y el área foliar total en el sistema flotante ($r^2 = 0,860$; $P < 0,001$) y en el sistema tradicional ($r^2 = 0,888$; $P < 0,001$). Por su parte en la Figura 3.6B se observa una correlación positiva entre RLAER y el área foliar total en el sistema tradicional ($r^2 = 0,903$; $P < 0,001$) y en el sistema flotante ($r^2 = 0,804$; $P < 0,001$). Las mayores pendientes de las funciones se dieron al relacionar RLA en función de la

superficie foliar total. Por otro lado, no hubo efecto del tipo de sistema de propagación sobre las funciones de regresión obtenidas para las correlaciones entre RLA, RLAER y superficie foliar.

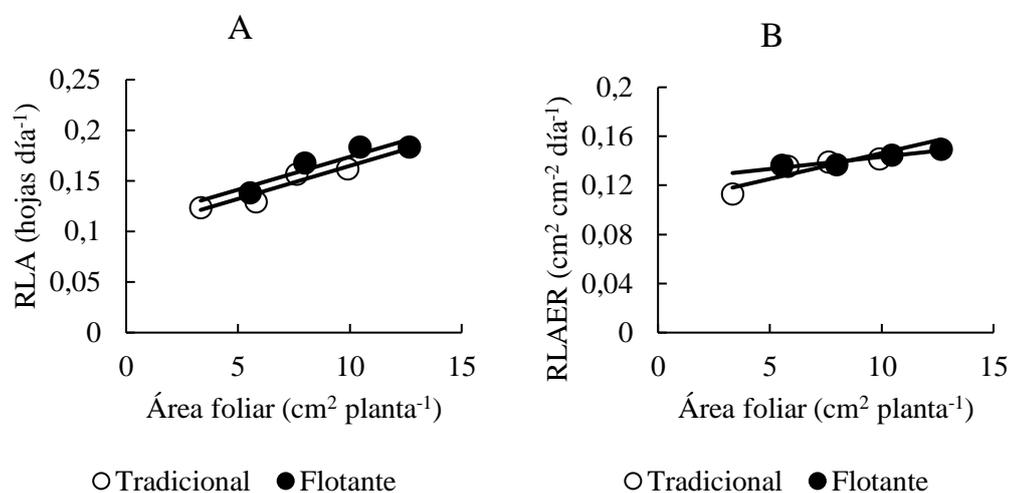


Figura 3.6. Relación entre tasa de aparición de hojas (RLA) (A), tasa relativa de expansión de área foliar (RLAER) (B) y área foliar total al momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* cultivadas en un sistema tradicional (símbolos vacíos) y un sistema flotante (símbolos llenos) en bandejas con cuatro números de celdas distintos. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $RLA_{\text{Tradicional}} = 0,0065 AF + 0,1088$ ($r^2 = 0,860$; $P < 0,001$); $RLA_{\text{Flotante}} = 0,0065 AF + 0,0995$ ($r^2 = 0,888$; $P < 0,001$); $RLAER_{\text{Tradicional}} = 0,002 AF + 0,1235$ ($r^2 = 0,903$; $P < 0,001$); $RLAER_{\text{Flotante}} = 0,0042 AF + 0,1042$ ($r^2 = 0,804$; $P < 0,001$).

SLA (sobre una base de peso seco) disminuyó a medida que el volumen de celda por bandeja era mayor (Cuadro 3.3), esto ocurrió tanto en el sistema tradicional como en el flotante, sin diferencias entre bandejas de 50 y 128 celdas para los dos sistemas, ni entre bandejas de 512 y 288 celdas para el sistema tradicional. Sin embargo, los menores valores comparando entre bandejas con un mismo número de celdas, pero bajo distinto sistema de propagación, se dieron en el flotante mientras que en el tradicional, SLA (sobre una base de peso seco) fue más del doble en todos los casos. El espesor de las hojas, reflejado en SLA sobre una base de peso fresco, tuvo el mismo comportamiento que SLA-seco pero con diferencias de menor magnitud cuando se comparó entre tamaño de celdas y tipo de sistema.

A medida que el número de celdas por bandeja fue mayor, LWR alcanzó los máximos valores en la etapa de propagación, sin diferencias en las bandejas con 512 y 288 celdas correspondientes al sistema flotante. Cuando se analizó lo sucedido entre sistemas, LWR fue siempre estadísticamente mayor en el flotante (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.3. Efecto del número de celdas por bandeja y el sistema de propagación sobre el área foliar específica (SLA) (sobre una base de peso seco y fresco) y la relación de peso foliar (LWR) durante la fase de siembra-trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre bandejas con diferente número de celdas.

Celdas bandeja ⁻¹	SLA-seco (cm ² g ⁻¹)		SLA-fresco (cm ² g ⁻¹)		LWR (g g ⁻¹)	
	Tradicional	Flotante	Tradicional	Flotante	Tradicional	Flotante
512	914,55aA	341,97aB	36,16aA	34,36aA	0,505aB	0,676aA
288	748,16bA	330,94bB	35,19aA	28,66bB	0,478bB	0,673aA
128	680,90bA	294,49cB	33,06bA	25,03cB	0,432cB	0,632bA
50	413,20dA	181,63dB	33,32bA	25,71cB	0,397dB	0,574cA

Para la variable RRGR se registró una relación creciente a medida que aumentaba el volumen de celda, tanto en el sistema flotante como tradicional con diferencias estadísticas entre bandejas con diferente número de celdas (Cuadro 3.4). Analizando el crecimiento del sistema radical y comparando entre sistemas a un nivel fijo del factor número de celdas por bandeja, resultó que RRGR fue mayor en el sistema flotante solo para bandejas con 512 y 50 celdas, mientras que fue superior en el sistema tradicional para bandejas con 288 y 128 celdas. El resultado no fue totalmente a favor o en contra de un sistema u otro.

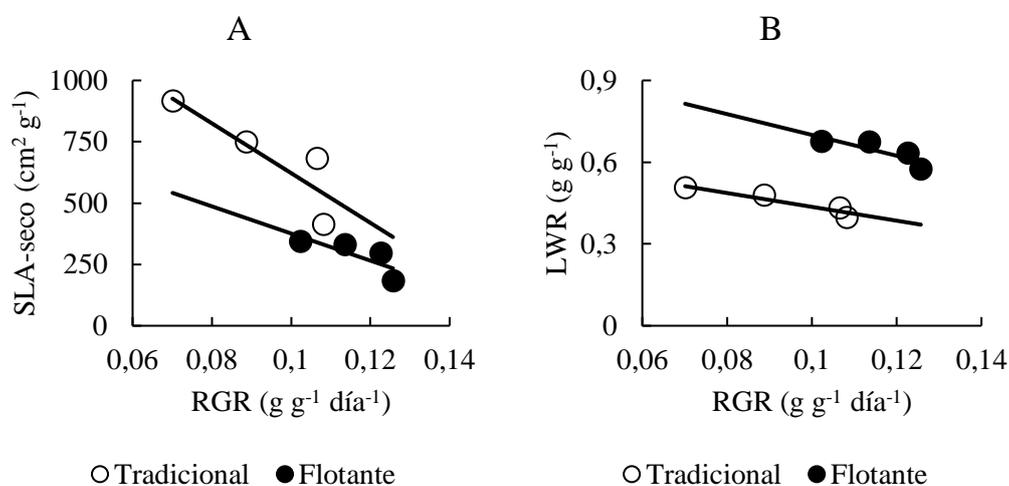
La relación raíz/parte aérea calculada al momento del trasplante fue estadísticamente mayor en las plantas provenientes del sistema tradicional para los cuatro números de celda por bandeja evaluados (Cuadro 3.4).

Tanto SLA-seco como LWR en función de RGR arrojaron ecuaciones de regresión estadísticamente distintas para cada sistema, correspondiéndole los menores valores de SLA-seco y los mayores de LWR al sistema flotante. Se encontraron relaciones negativas entre SLA-seco y RGR, tanto en el sistema tradicional ($r^2 = 0,756$; $P < 0,001$) como en el flotante ($r^2 = 0,629$; $P < 0,001$) (Figura 3.7A). El patrón de respuesta para LWR en función de RGR en el sistema tradicional ($r^2 = 0,895$; $P < 0,001$) y en el flotante ($r^2 = 0,714$; $P < 0,001$) (Figura 3.7B) fue también similar.

Cuadro 3.4. Efecto del número de celdas por bandeja y del sistema de propagación sobre la tasa de crecimiento relativa de la raíz (RRGR) y la relación raíz/parte aérea durante la propagación. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas distintas entre bandejas con diferente número de celdas ($P < 0,05$) y letras mayúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación. La probabilidad que la pendiente de la RRGR sea cero fue $P < 0,001$.

Celdas bandeja ⁻¹	RRGR (g g ⁻¹ day ⁻¹)		Relación raíz/parte aérea	
	Tradicional	Flotante	Tradicional	Flotante
512	0,0986dB	0,1107dA	0,473cA	0,376aB
288	0,1211cA	0,1166cB	0,519bA	0,376aB
128	0,1477bA	0,1316bB	0,848aA	0,161cB
50	0,1454aB	0,1495aA	0,853aA	0,193bB

En la Figura 3.7C se correlacionó SLA-fresco y NAR encontrándose una relación negativa entre ambos estimadores con diferencias entre tipo de sistema de propagación. Los menores valores de SLA-fresco se verificaron en el sistema flotante asociados a su vez a los mayores de NAR. A medida que SLA-fresco disminuye, aumenta el espesor foliar.



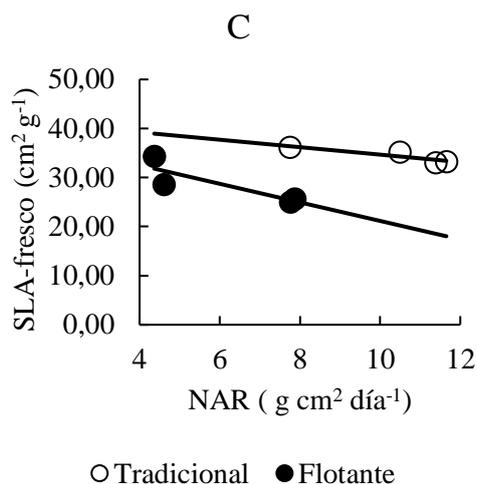


Figura 3.7. Relación entre área foliar específica en base de peso seco (SLA_{Seco}) (A), relación de peso foliar (LWR) (B) y tasa de crecimiento relativo (RGR) al momento de trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* cultivadas en un sistema tradicional (símbolos vacíos) y un sistema flotante (símbolos llenos) en bandejas con cuatro números de celdas distintos. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $SLA_{Seco-Traducional} = -5531,00 RGR + 1636,80$ ($r^2 = 0,756$; $P < 0,001$); $SLA_{Seco-Flotante} = -5532,00 RGR + 929,13$ ($r^2 = 0,629$; $P < 0,001$); $LWR_{Traducional} = -2,58 RGR + 0,69$ ($r^2 = 0,895$; $P < 0,001$); $LWR_{Flotante} = -3,82 RGR + 1,08$ ($r^2 = 0,714$; $P < 0,001$). En la sub-figura C se indica la relación entre el área foliar específica (sobre una base de peso fresco) (SLA_{Fresco}) y la tasa de asimilación neta (NAR). Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $SLA_{Fresco-Traducional} = -0,75 NAR + 42,27$ ($r^2 = 0,825$; $P < 0,001$); $SLA_{Fresco-Flotante} = -1,89 NAR + 40,08$ ($r^2 = 0,739$; $P < 0,001$).

3.3. DISCUSIÓN

Resultados recientes en *I. walleriana* confirmaron que a menor número de celdas por bandeja, mayor área foliar total en la etapa de pre-trasplante en plantas cultivadas en el sistema tradicional sobre plataformas de madera (Di Benedetto y Klasman, 2007). Sin embargo, las áreas foliares más altas para bandejas con diferente número de celdas se encontraron en plantas propagadas en el sistema flotante (Figura 3.1).

Los resultados encontrados en el sistema tradicional concuerdan con los de Özer (2018) en tomate y con reportes previos realizados en plantas de *I. walleriana* (De Lojo et al., 2017, 2019a, b). Por el contrario, estos resultados no concuerdan con los de Dintcheva (2017), quien sugirió que el tamaño de la celda no afectaba significativamente el crecimiento de las plantas de tomate, aunque el número de celdas de la bandeja de sus experimentos varió solo entre 70 y 104.

Las diferencias en área foliar total entre plantas provenientes de diferente número de celdas por bandeja y sistemas de propagación fueron el resultado de valores más altos de RLA y RLAER (Cuadro 3.1). Informes previos en lechuga han demostrado que el sistema flotante permite obtener un alto número de hojas (Monteiro et al., 2020), pero no había datos sobre el desarrollo del área foliar, que comparen el sistema flotante con las bandejas tradicionales.

Estéticamente, el principal rasgo relacionado con la calidad de la planta para la aceptación comercial de las plantas ornamentales es el área foliar total. Al respecto, los resultados que se muestran en la Figura 3.1 y el Cuadro 3.2 indican que el sistema flotante sería una alternativa tecnológica para obtener plantas con mayor área foliar en el momento del trasplante en todos los números de celda por bandeja probados.

El desarrollo del área foliar se puede caracterizar por medio de tres estimadores de crecimiento:

- RLA: que es un estimador de la iniciación de hojas y la longitud del Plastocrono.
- RLAER: que permite cuantificar la expansión foliar.
- SLA: que caracteriza el espesor de la hoja y se relaciona positivamente con la tasa fotosintética.

Una afirmación general es que la producción de biomasa aumenta tanto a través de la aparición como de la expansión de las hojas y que los foto-asimilados de las hojas son la fuerza para la iniciación y el crecimiento de raíces, brotes y hojas (Lu et al., 2020). Los cambios en el área foliar total están relacionados principalmente con la capacidad del ápice meristemático para iniciar y expandir primordios foliares. Los mismos están respaldados por los altos coeficientes de correlación (r^2 entre 0,804 y 0,903) que se muestran en la Figura 3.2 entre RLA, RLAER y el área foliar expandida en el momento del trasplante. Estos coeficientes también indican la importancia tanto de RLA como de RLAER para el área foliar total expandida durante el pre-trasplante, independientemente del sistema de cultivo utilizado.

Es también un hecho conocido que una mayor biomasa acumulada en el momento del trasplante asegura una mayor tasa de crecimiento en el pos-trasplante (Di Benedetto et al., 2020a). Con respecto al peso fresco total acumulado al final de la etapa de trasplante en mis experimentos, los mejores resultados se encontraron en las plantas de *I. walleriana* cultivadas

en las bandejas con menor número de celdas (50 celdas). Las plantas cultivadas en el sistema flotante mostraron diferencias crecientes en relación con las cultivadas en el medio tradicional sobre plataformas de madera (Figura 3.3).

Cuando las plantas se secaron hasta peso constante a 80°C durante 96 horas y se registró el peso seco, las diferencias estadísticas entre tratamientos aumentaron considerablemente (Figura 3.4). De esta manera, los datos de los sistemas tradicionales y flotantes mostraron un efecto claro del número de celdas por bandeja sobre la acumulación de biomasa total en el momento del trasplante.

La hipótesis de que el peso fresco de la parte aérea acumulado durante el pre-trasplante está estrechamente relacionado con el peso fresco de las raíces (Di Benedetto et al., 2020a) sería también validada por la disminución de la restricción de raíces en plantas cultivadas en el sistema flotante.

Cuando las plántulas se cultivaron en bandejas en forma tradicional (sobre mesadas de madera), el crecimiento tendía a ser proporcional al número de celdas por bandeja porque las raíces que salen por el orificio de drenaje generalmente mueren. Por otro lado, las raíces del sistema flotante permanecen funcionales hasta el trasplante. Este efecto visual sugiere que las plantas del sistema flotante tienen un sistema de raíces más grande que el que se esperaría a partir del volumen de cada celda en particular.

En el sistema tradicional, el volumen limitado de la celda restringe el crecimiento vertical de la raíz cuando el meristema apical de la raíz alcanza el fondo de la celda (Figura 3.5A). Por lo tanto, tanto el crecimiento de la raíz primaria como la ramificación de la raíz disminuyen y, presumiblemente, la concentración de citocininas, la principal hormona endógena sintetizada por el meristema apical de la raíz, probablemente también disminuya (Kotov & Kotova, 2015). Las plántulas cultivadas en bandejas multicelda pueden mostrar un sistema de raíces bien desarrollado con raíces blancas y sin daño, pero con un crecimiento alrededor de la celda (Di Benedetto et al., 2006; De Lojo et al., 2017), lo que puede limitar la translocación de citocininas. La ausencia de este último efecto en plantas provenientes de bandejas flotantes (Figura 3.5B) explicaría las diferencias en área foliar y acumulación de biomasa en relación al sistema tradicional.

Se ha indicado que las raíces no solo proveen de nutrientes y anclaje a las plantas sino también se encargan de censar las condiciones físico-químicas del medio en el que crecen y de enviar señales a la parte aérea generando así cambios en el crecimiento y el metabolismo, que le permiten a la planta adaptarse al medio en el que crece (Maurel et al., 2010; Kolb et al., 2017) y que esta relación es controlada por un mecanismo fisiológico de naturaleza hormonal (Bartoli et al., 2013; Zwack & Rashotte, 2015).

Estudios previos han indicado que las respuestas de las plántulas al tamaño de la celda en la bandeja multicelda estarían integradas principalmente por los niveles endógenos de citocininas (Zwack & Rashotte, 2015). Aunque las citocininas se producen en todos los tejidos del vegetal y sus diversas formas cumplen distintas funciones, la principal fuente son las raíces y ante una disminución o aumento de su biomasa, menor o mayor es la producción y transporte vía xilema de ribósidos de zeatina o citocininas en forma libre o biológicamente activa (Kotov & Kotova et al., 2015).

Las citocininas endógenas sintetizadas en las raíces se transportan a los brotes a través del xilema. Aunque la concentración neta de citocininas que alcanza el meristema apical es el resultado de sus tasas de síntesis y degradación, la síntesis de citocininas aumenta con el tamaño del sistema radical (Di Benedetto et al., 2020a, b).

Aunque el área foliar determina la capacidad de la planta para interceptar la luz fotosintéticamente activa, el RGR cuantifica la acumulación de biomasa. Las diferencias en el peso seco total en la etapa de trasplante parecen explicarse por una RGR más alta debido a diferencias en la respuesta a bandejas con diferente número de celdas y al sistema de propagación. Cuando los valores de RGR se desagregaron en NAR y LAR, ambos aumentaron de acuerdo con una disminución en el número de celdas por bandeja. Por otro lado, los valores más altos en cada caso se encontraron en las plantas del sistema flotante (Cuadro 3.3).

Se encontraron relaciones positivas entre NAR (Figura 3.6A), LAR (Figura 3.6B) y RGR en plantas de *I. walleriana*, con diferencias significativas entre los dos sistemas de propagación probados. Por otro lado, se encontraron relaciones negativas entre SLA tanto en una base de peso seco (Figura 3.6C) como fresco (Figura 3.6E), LWR (Figura 3.6D) y RGR, con diferencias significativas entre los sistemas de propagación evaluados. Los datos concuerdan con reportes previos de nuestro laboratorio en plantas de *I. walleriana* propagadas

en bandejas multicelda sobre plataformas de madera (sistema tradicional) (De Lojo et al., 2017; 2019a, b). Por otro lado, cuando LAR fue desagregado en SLA y LWR, los resultados de las regresiones muestran que SLA tiene la mayor pendiente (que indica la variación de SLA o LWR por variación unitaria de RGR) que LWR, por lo que sería el factor que más estaría afectando a LAR y por ende RGR.

Aunque las actividades meristemáticas y el alargamiento celular son dos factores cruciales que determinan la tasa de crecimiento vegetativo, la producción total de biomasa de una planta en particular está muy influenciada por la eficiencia de la fotosíntesis, que proporciona materias primas para el crecimiento vegetativo. A su vez, la eficiencia fotosintética influye en gran medida en la RGR, que finalmente cuantifica la acumulación de biomasa (Demura & Ye, 2010). En *I. walleriana* (Gandolfo et al., 2014) y lechuga (Carnelos et al., 2022), cuando aumentaba el espesor del mesófilo de la hoja, también lo hacía la tasa fotosintética máxima, lo que explica en parte la mayor acumulación de biomasa en las plantas flotantes, independientemente del número de celdas por bandeja utilizado.

Aunque estudios previos han demostrado la eficiencia del sistema flotante para diferentes especies bajo cultivos intensivos, hay pocas comparaciones entre este y el sistema tradicional. Además, el enfoque metodológico solo contempla cambios en el número de hojas o peso fresco-seco al momento del trasplante. En contraste, la metodología de análisis de crecimiento utilizada en mis experimentos valida los resultados a favor del uso de un sistema flotante y también muestra los mecanismos fisiológicos involucrados.

Los resultados indicaron que el sistema flotante es capaz de reducir la restricción radical de tal manera que aumente la acumulación de biomasa por unidad de área y tiempo durante la etapa de propagación en relación con el sistema tradicional de conducción sobre mesadas. Los mecanismos involucrados incluyeron la iniciación y expansión de la hoja, la eficiencia fotosintética de la planta y la partición diferencial de los fotoasimilados entre diferentes destinos potenciales.

CAPÍTULO 4

Participación de las auxinas y las citocininas en el control de los procesos fisiológicos asociados con la acumulación de biomasa

4.1. INTRODUCCIÓN

Aunque la restricción al crecimiento de raíces debido a un volumen pequeño de la celda en la bandeja multicelda utilizada para la propagación de especies ornamentales iniciadas por semilla es un hecho conocido, solo recientemente se ha enfatizado que esta restricción puede definir la rentabilidad de un cultivo comercial ornamental (Di Benedetto et al., 2020a).

En los sistemas tradicionales de propagación en bandeja multicelda, la restricción de la raíz que se genera cuando la raíz llega a la base de la celda y se ve obligada a cambiar la dirección de su crecimiento reduce tanto la tasa de expansión como la ramificación de la raíz (Di Benedetto et al., 2006). En ese momento la raíz pivotante se atrofia y el sistema radical post-trasplante se apoya en el crecimiento de raíces adventicias. Por ello, se ha utilizado la tecnología de ‘bandeja flotante’ (que determina una reducción drástica de la restricción radicular asociada al volumen de la celda en la bandeja) para aumentar la eficiencia de la etapa de propagación comercial. Los datos del Capítulo 3 han demostrado que el uso de un sistema de bandeja flotante permite revertir los principales efectos negativos de la restricción radical.

En general, los efectos de las auxinas y las citocininas sobre el crecimiento del sistema radical son opuestos (Kurepa et al., 2019). Las citocininas inhiben el crecimiento radical a través de su efecto sobre la división y diferenciación del ápice radical y sobre el periciclo de la raíz principal (Gonin et al., 2019), mientras que las auxinas aumentan la masa radical a través de la diferenciación de ramificaciones (Gomes & Scortecci, 2021).

Durante los últimos años, la evidencia emergente ha demostrado que la aplicación exógena de citocininas (como 6-bencilaminopurina, BAP) en diferentes especies ornamentales (incluida *Impatiens walleriana*) puede reducir el efecto negativo de los tamaños de celda limitados (Di Benedetto et al., 2020a). Sin embargo, estudios recientes en *Impatiens hawkeri* han sugerido que las auxinas no inhiben la síntesis de citocininas en las puntas de las raíces, lo que indica que ambas hormonas podrían estar participando en la misma secuencia de eventos asociados con el desarrollo de nuevas raíces laterales (Molinari et al., 2020).

Los efectos de un cambio en la concentración endógena de citocininas se pueden observar con la aplicación de dopamina, la cual ha sido mencionada como antagonista de la síntesis de citocininas (Christou & Barton, 1989; Van Staden et al., 2008). Sin embargo, Datos previos en repollito de Bruselas (Lozano-Miglioli et al., 2020) indican que la respuesta al asperjado con dopamina es compleja y está asociada, al menos, con las condiciones ambientales durante el experimento.

Las auxinas pueden actuar promoviendo tanto la división como expansión celular en las hojas conduciendo así al crecimiento de toda la planta, o pueden actuar de forma indirecta. Guan et al. (2017) sugirieron que las auxinas actúan promoviendo genes en la cara abaxial y adaxial de las hojas para definir la aparición de las hojas. Debido a su conocido efecto sobre la ramificación de la raíz, las auxinas podrían incrementar el número de ápices radicales que son sitios potenciales de producción de citocininas. En este último caso la promoción del crecimiento por las auxinas podría imitar lo observado con aplicaciones directas de citocininas (Di Benedetto et al., 2020a).

Dado que las auxinas son económicas y fáciles de adquirir, si pudieran reemplazar a las citocininas para promover el crecimiento, su uso podría ser de interés productivo. Para demostrar la participación de las auxinas en diferentes procesos fisiológicos relacionados con el rendimiento, se puede bloquear el desarrollo de las raíces laterales mediante el uso de inhibidores del transporte de auxinas (que se sintetizan en el ápice vegetativo del tallo y se mueven basípetamente por transporte polar), como el ácido naftilftalámico (NPA), que bloquea las primeras divisiones transversales (Singh et al., 2020; Seo et al., 2021) o el ácido triyodobenzoico (TIBA), que perturba el movimiento de vesículas que contienen transportadores de auxina hacia y desde las membranas celulares (Soeno et al., 2021).

Por lo tanto, si el efecto promotor del crecimiento de las auxinas exógenas está mediado por su translocación a las raíces, es posible plantear la hipótesis de que la aplicación conjunta de cualquiera de estos inhibidores del transporte de auxinas bloquea al menos parcialmente la promoción del crecimiento. De la misma manera, el asperjado con dopamina bloquea la síntesis de las citocininas endógenas.

Con base en esta hipótesis, un segundo objetivo de mi proyecto fue evaluar la acumulación de biomasa pre-trasplante en plantas de *I. walleriana* cultivadas en dos sistemas

de propagación (bandejas multicelda conducidas en forma tradicional y en un sistema flotante) con bandejas de diferentes número de celdas y el asperjado con una dosis única de la auxina sintética AIA, con dos inhibidores del transporte de auxinas endógenas (NPA o TIBA) y un inhibidor de las citocininas endógenas (dopamina).

4.2. RESULTADOS

Al analizar el área foliar total en el momento del trasplante (Figura 4.1A y 4.1B) se pudo observar que, independientemente del tratamiento, las plantas producidas en el sistema flotante tuvieron las mayores áreas foliares por planta, situación que se verificó tanto para las plantas testigo, las tratadas con AIA, con inhibidores del transporte de auxinas (TIBA y NPA) y con un inhibidor de la síntesis de citocininas (dopamina).

Las plantas tratadas con AIA alcanzaron mayores áreas foliares al trasplante, pero con diferencias estadísticamente significativas y de mayor magnitud en el sistema flotante respecto el tradicional. Por otro lado, tanto las plántulas asperjadas con TIBA, NPA y dopamina mostraron un efecto negativo sobre el área foliar por planta en ambos sistemas de propagación, el cual fue reducido cuando las plantas fueron cultivadas en un sistema flotante, en algunos casos con valores estadísticamente iguales a las plantas testigo del mismo sistema de propagación.

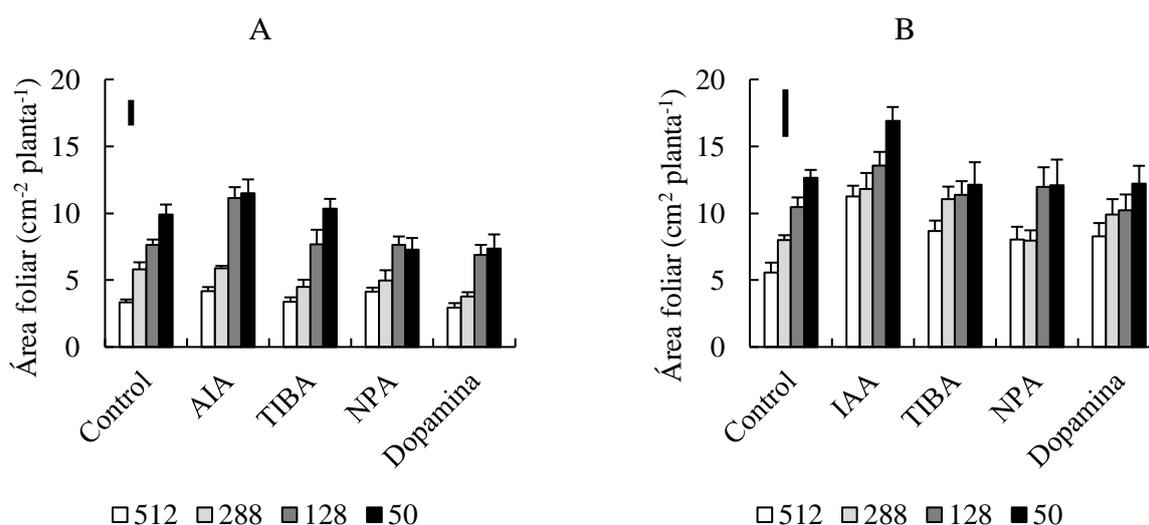


Figura 4.1. Efecto del asperjado exógeno de auxinas e inhibidores del transporte de auxinas y de la síntesis de citocininas endógenas sobre la expansión de área foliar en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en diferentes tamaños de celda y dos sistemas de propagación, tradicional (A) y flotante (B). Sobre cada barra se indica el error estándar del área foliar total. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba

LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Área foliar - Tradicional}} = 1,92 \text{ cm}^2 \text{ planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Área foliar - Flotante}} = 3,53 \text{ cm}^2 \text{ planta}^{-1}$.

En el Cuadro 4.1 se observa que las diferencias de área foliar total a favor de las pantas provenientes del sistema flotante se atribuyeron tanto a mayores valores de RLA como RLAER, las diferencias se dieron a favor de las plantas tratadas con AIA y a favor de un menor número de celdas por bandeja, situación que en general se mantuvo tanto para plantas testigo como asperjadas con AIA, TIBA, NPA y dopamina.

Cuadro 4.1. Efecto del asperjado exógeno con auxinas e inhibidores del transporte auxinas y de la síntesis de citocininas endógenas sobre la tasa de aparición de hojas (RLA) y la tasa relativa de expansión foliar (RLAER) en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en bandejas con diferente número de celdas y en dos sistemas de propagación. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre bandejas con diferente número de celdas. La probabilidad que la pendiente de RLA y RLAER sea cero fue $P < 0,001$.

Tratamiento	Celdas bandeja ⁻¹	RLA (hojas día ⁻¹)		RLAER (cm ² cm ⁻² día ⁻¹)	
		Tradicional	Flotante	Tradicional	Flotante
Testigo	512	0,1235dB	0,1382cA	0,1130dB	0,1363cA
	288	0,1297cB	0,1676bA	0,1356cA	0,1365cA
	128	0,1568bB	0,1838aA	0,1388bB	0,1443bA
	50	0,1622aB	0,1838aA	0,1416aB	0,1494aA
AIA	512	0,1294dB	0,1881cA	0,1190cB	0,1306dA
	288	0,1459cB	0,1818cA	0,1347bB	0,1464cA
	128	0,2000bB	0,2324bA	0,1452aB	0,1508bA
	50	0,2216aB	0,2703aA	0,1454aB	0,1586aA
TIBA	512	0,1324dB	0,1838dA	0,1109dB	0,1452bA
	288	0,1405Bc	0,1941cA	0,1341cB	0,1457bA
	128	0,1459bB	0,2054bA	0,1427bB	0,1464bA
	50	0,1892aB	0,2432aA	0,1485aB	0,1507aA
NPA	512	0,1353cB	0,1784dA	0,1148bB	0,1358cA
	288	0,1405bB	0,1853cA	0,1330aB	0,1453bA
	128	0,1407bB	0,2108bA	0,1346aB	0,1476bA
	50	0,1459aB	0,2595aA	0,1350aB	0,1528aA
Dopamina	512	0,113dB	0,125dA	0,107dB	0,130cA
	288	0,126cB	0,158cA	0,124cB	0,132cA
	128	0,134bB	0,178bA	0,132bB	0,142bA
	50	0,145aB	0,180aA	0,138aB	0,147aA

Cuando se graficaron todas las observaciones de RLA y RLAER en función del área foliar total se verificaron relaciones positivas entre ambas variables (Figuras 4.2A y 4.2B). Se observó mayor influencia de RLA sobre el área foliar que se reflejó en la mayor pendiente de

la recta de regresión. Las observaciones de mayor magnitud pertenecieron al sistema flotante independientemente del tratamiento aéreo.

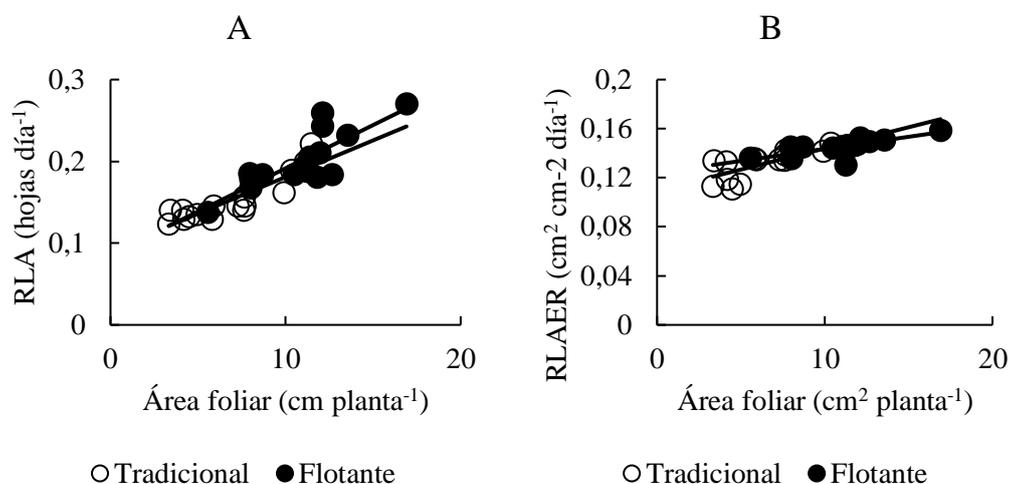


Figura 4.2. Relación entre la tasa de aparición de hojas (RLA) (A), la tasa relativa de expansión de área foliar (RLAER) (B) y el área foliar total al momento de trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* cultivadas en bandejas de cuatro tamaños distintos. Los puntos vacíos son las observaciones correspondientes a plantas testigo y aquellas tratadas con AIA, NPA, TIBA y dopamina en el sistema tradicional y los puntos llenos son las observaciones correspondientes plantas testigo y aquellas tratadas con AIA, NPA, TIBA y dopamina en el sistema flotante. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $RLA_{\text{Tradicional}} = 0,009 \text{ AF} + 0,091$ ($r^2 = 0,780$; $P < 0,001$); $RLA_{\text{Flotante}} = 0,0106 \text{ AF} + 0,086$ ($r^2 = 0,671$; $P < 0,001$); $RLAER_{\text{Tradicional}} = 0,004 \text{ AF} + 0,109$ ($r^2 = 0,620$; $P < 0,001$); $RLAER_{\text{Flotante}} = 0,002 \text{ AF} + 0,124$ ($r^2 = 0,547$; $P < 0,001$).

De la misma manera cómo ocurrió con el área foliar, se observa en las Figuras 4.3A y 4.3B, que tanto las plantas testigo como las que recibieron un tratamiento hormonal tuvieron mayor incremento en materia fresca total cuando se trató de aquellas propagadas en el sistema flotante. En ambos sistemas, el tratamiento con AIA produjo los mayores incrementos de materia fresca total, mientras que con TIBA, NPA y dopamina no mostraron reducciones unánimes de materia fresca, incluso se registraron aumentos de materia fresca como en las plántulas provenientes de bandeja con mayor número de celdas (512 y 288 celdas bandeja⁻¹) bajo el sistema flotante, y en la mayoría de los casos sin diferencias estadísticas del tratamiento con estos inhibidores respecto los testigos de cada sistema.

Al observar la acumulación del peso seco, tanto las plantas testigo, como las asperjadas con AIA y con los inhibidores del transporte de auxinas (TIBA y NPA) y de la síntesis de citocininas (dopamina), mostraron mayores acumulaciones de materia seca cuando provenían del sistema flotante (Figura 4.4B). En el sistema tradicional (Figura 4.4A) el asperjado con AIA produjo una mayor acumulación de peso seco principalmente en las bandejas con 512 y 288

celdas mientras que en las menos restrictivas (128 y 512 celdas bandeja⁻¹) no se encontraron diferencias. En el sistema flotante, el efecto de las auxinas fue más difuso incluso al comparar plantas testigo versus asperjadas con AIA en las bandejas con mayor número de celdas.

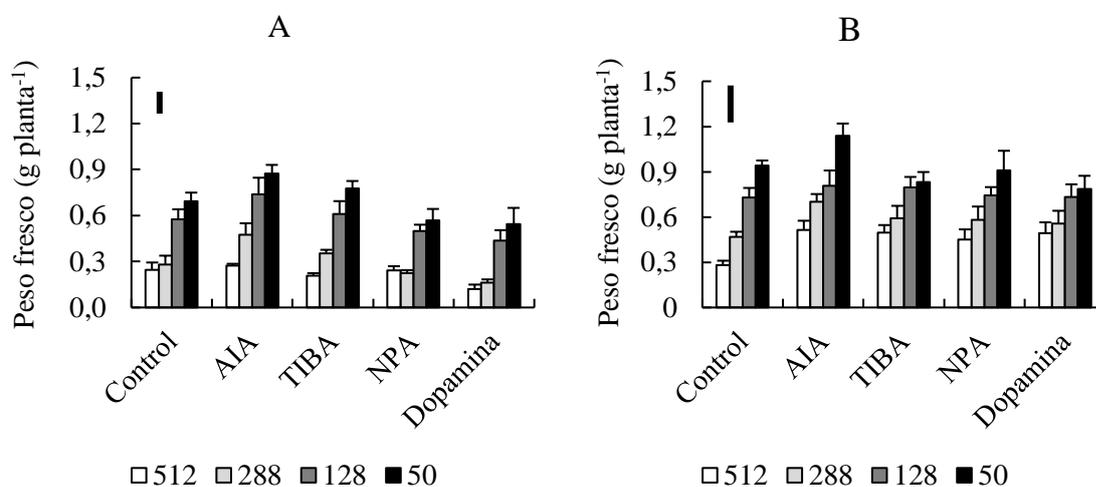


Figura 4.3. Efecto del asperjado exógeno de auxinas e inhibidores del transporte de auxinas sobre la acumulación de peso fresco total en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en diferentes tamaños de celda y dos sistemas de propagación, tradicional (A) y flotante (B). Sobre cada barra se indica el error estándar del peso fresco total. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Peso fresco total - Tradicional}} = 0,14061 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Peso fresco total - Flotante}} = 0,24629 \text{ g planta}^{-1}$.

El uso de los inhibidores NPA, TIBA y dopamina en el sistema tradicional (Figura 4.4A) produjo leves reducciones de materia seca en las bandejas con 128 y 50 celdas al comparar con el tratamiento testigo correspondiente. En las bandejas con 512 y 288 celdas lejos de disminuir el peso seco, este aumentó o no mostró diferencias significativas. En el sistema flotante (Figura 4.4B), la tendencia de reducción del peso seco ante el tratamiento con estos inhibidores fue más clara, no así en las bandejas con 512 celdas que no presentó diferencias.

El análisis de la capacidad de acumulación de fotoasimilados reflejada a través de RGR (Cuadro 4.2) mostro diferencias estadísticas a favor del sistema flotante tanto en las plantas testigo como en aquellas que fueron tratadas con AIA. Inclusive, las plantas asperjadas con inhibidores del transporte de auxinas y de síntesis de citocininas presentaron mayor RGR cuando se desarrollaron en el sistema flotante.

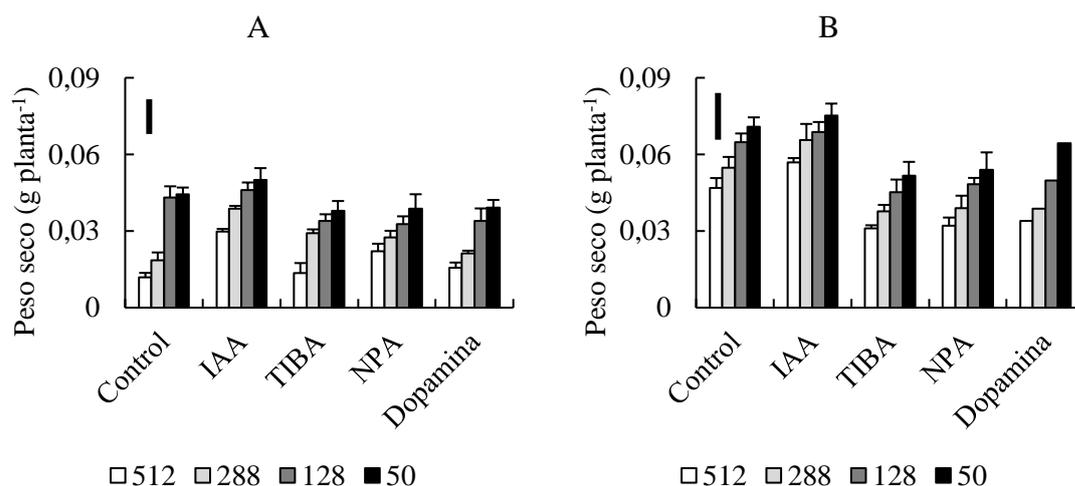


Figura 4.4. Efecto del asperjado exógeno de auxinas e inhibidores del transporte de auxinas y de la síntesis de citocininas sobre la acumulación de peso seco total en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en bandejas con diferente número de celdas y en dos sistemas de propagación, tradicional (A) y flotante (B). Sobre cada barra se indica el error estándar del peso seco total. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Peso seco total - Tradicional}} = 0,01359 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Peso seco total - Flotante}} = 0,01820 \text{ g planta}^{-1}$.

En las plantas testigo hubo una tendencia clara a aumentar RGR a medida que disminuía el número de celdas por bandeja, apoyado también por diferencias estadísticamente significativas, mientras que en el lote de plantas tratadas con AIA la tendencia al efecto del número de celdas por bandeja fue similar. A pesar de los tratamientos con TIBA, NPA y dopamina, las mayores RGR se siguieron observándose en las bandejas con menor número de celdas por bandeja, decreciendo con un aumento de las mismas, sin embargo en estos casos hubo un efecto que modificó levemente la respuesta al número de celdas.

Cuando se analizó lo ocurrido con los componentes de la RGR desagregada en NAR y LAR, para el componente fisiológico NAR (Cuadro 4.2), a excepción de pocos casos, los valores calculados fueron mayores cuando las plantas provenían del sistema flotante independientemente de si se trataba de plantas testigo o tratadas.

Si bien las diferencias estadísticas no fueron significativas, hubo una tendencia a incrementar NAR con la disminución del número de celdas por bandeja de la misma manera que con RGR, situación que se mantuvo para ambos sistemas y para lotes de plantas testigos y tratadas con AIA, TIBA, NPA o dopamina.

El componente morfológico LAR (Cuadro 4.2), a diferencia del anterior, presentó menores valores cuando las plántulas provinieron del sistema flotante. Esto se cumplió para cualquier combinación de los factores tratamiento hormonal y número de celdas por bandeja, con excepción de pocos casos donde no hubo diferencias. La tendencia que siguió esta variable ante el factor número de celdas fue el mismo que con NAR y RGR, aumentando a medida que aumentaba el número de celdas por bandeja. La respuesta fue similar para las plantas testigo como para las tratadas con AIA, TIBA, NPA y dopamina, tanto en el sistema flotante como en el tradicional.

Cuadro 4.2. Efecto del asperjado exógeno de auxinas e inhibidores del transporte de auxinas y de la síntesis de citocininas endógenas sobre la tasa de crecimiento relativa (RGR), la tasa de asimilación neta (NAR) y la relación de área foliar (LAR) al momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en bandejas con diferente número de celdas y en dos sistemas de propagación. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre bandejas con diferente número de celdas. La probabilidad que la pendiente de RGR sea cero fue $P < 0,001$.

Tratamiento	Celdas bandeja ⁻¹	RGR (g g ⁻¹ día ⁻¹)		NAR (g cm ⁻² día ⁻¹) x 10 ⁻⁵		LAR (cm ² g ⁻¹)	
		Tradicional	Flotante	Tradicional	Flotante	Tradicional	Flotante
Testigo	512	0,0701cB	0,1023dA	4,36bB	7,75cA	135,37cA	105,21bB
	288	0,0887bB	0,1136cA	4,60bB	10,49bA	139,32cA	108,29bB
	128	0,1066aB	0,1226bA	7,77aB	11,39aA	160,61bA	110,39bB
	50	0,1082aB	0,1257aA	7,87aB	11,65aA	192,64aA	132,05aB
AIA	512	0,0880cA	0,0887cA	8,12dA	8,31cA	74,20cA	55,14cB
	288	0,0969bB	0,1104bA	10,88cB	16,68bA	78,05cA	55,26cB
	128	0,1029aB	0,1186aA	13,18bB	21,46aA	89,07bA	66,18bB
	50	0,1052aB	0,1187aA	14,18aB	21,53aA	108,33aA	106,68aA
TIBA	512	0,0751dB	0,1028cA	5,22dB	13,14dA	65,03dA	64,60bA
	288	0,0965cB	0,1053cA	10,74cB	14,22cA	76,36cA	68,70bA
	128	0,1039bB	0,1087bA	13,61bB	15,82bA	89,86bA	74,04aB
	50	0,1112aA	0,1115aA	17,10aA	17,26aA	143,88aA	78,23aB
NPA	512	0,0867cB	0,1033cA	7,78dB	13,35dA	74,20cA	52,07cB
	288	0,0970bB	0,1069bA	10,91cB	14,96cA	75,85cA	68,40bA
	128	0,1042aB	0,1089bA	13,74bB	15,92bA	88,87bA	71,48bB
	50	0,1052aB	0,1213aA	14,18aB	23,30aA	111,47aA	77,37aB
Dopamina	512	0,0785dB	0,0894dA	6,98cB	8,53dA	40,46aA	31,33aB
	288	0,0916cB	0,1035cA	7,16cB	9,09cA	33,65bA	27,79bB
	128	0,1029bB	0,1095bA	8,51bB	10,64bA	31,10cA	25,36cB
	50	0,1061aB	0,1180aA	9,95aB	13,45aA	30,14dA	24,69dB

A medida que el tamaño de celda era mayor, menor era SLA-seco; esto se cumplió en los dos sistemas y para cualquier nivel del factor tratamiento hormonal. Al calcular SLA-seco

y comparar los testigos de ambos sistemas (Cuadro 4.3) se pudo observar que el sistema flotante produjo valores estadísticamente menores que el tradicional en todos los tratamientos que involucraban diferente número de celdas por bandeja. Lo mismo ocurrió para lotes tratados con AIA, NPA, TIBA y dopamina pero la magnitud de las diferencias no fue tan grande como al comparar solo lotes de plantas testigo.

En el caso de SLA-fresco (Cuadro 4.3), en particular al comparar los resultados de testigos del sistema flotante contra el tradicional no se verificaron diferencias estadísticas, sin embargo se mantuvo la leve tendencia a disminuir SLA-fresco con aumentos de volumen de celda. En los lotes tratados con AIA, NPA, TIBA y dopamina, hubo diferencias en su gran mayoría a favor del sistema tradicional.

El tipo de sistema también afectó a LWR (Cuadro 4.3), produciendo mayores valores cuando las plantas provenían del sistema flotante. Las diferencias estadísticamente significativas se dieron tanto en testigos como en el resto de los tratamientos. El efecto del número de celdas por bandeja también fue relevante para LWR, verificándose una relación inversa entre tamaño de celda y esta variable.

El peso seco de la raíz, para plantas testigo (Figura 4.5A) en el sistema tradicional presentó respuesta al número de celdas por bandeja, sin embargo no se logró diferenciar estadísticamente aquellas provenientes de bandejas con 50 celdas de las de 128 celdas, ni entre las de 288 y 512 celdas. En cuanto al peso seco de la parte aérea de este mismo lote de plantas se dio la misma situación.

En el sistema flotante, la materia seca acumulada en raíces a nivel estadístico no se diferenció entre bandejas con distintos números de celdas, excepto las mediciones de raíz de las bandejas con 50 celdas que presentó el máximo valor promedio de $0,0248 \text{ gr planta}^{-1}$. La materia seca de los órganos aéreos en este sistema fue similar con poco efecto del factor número de celdas por bandeja.

Comparando la materia seca acumulada de órganos subterráneos y aéreos de ambos sistemas de propagación, se puede notar que las mayores diferencias fueron de materia seca de parte aérea y a favor del sistema flotante, mientras que en las raíces la diferencia no fue tan marcada en el sistema tradicional.

Cuadro 4.3. Efecto de bandejas con diferente número de celda y el sistema de propagación sobre el área foliar específica (SLA) (sobre una base de peso seco y fresco) y la relación de peso foliar (LWR) durante la fase de siembra-trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. Letras mayúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre sistemas de propagación y letras minúsculas indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre bandejas con diferente número de celdas.

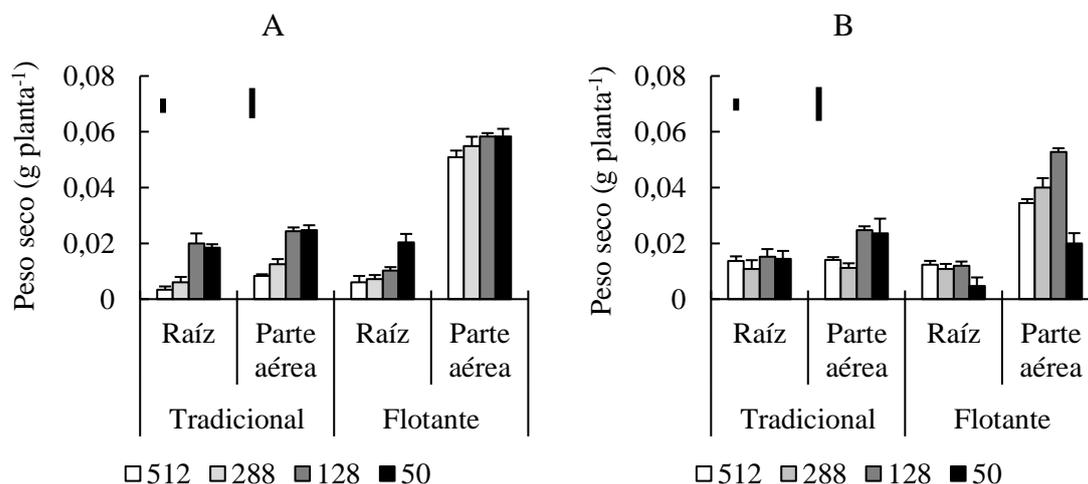
Tratamiento	Celdas bandeja ⁻¹	SLA-seco (cm ² g ⁻¹)		SLA-fresco (cm ² g ⁻¹)		LWR (g g ⁻¹)	
		Tradicional	Flotante	Tradicional	Flotante	Tradicional	Flotante
Testigo	512	914,55aA	341,97aB	34,36aB	36,16aB	0,505aB	0,676aA
	288	748,16bA	330,94bB	28,66bB	35,19aB	0,478bB	0,673aA
	128	680,90cA	294,49cB	25,03cB	33,06bB	0,432cB	0,632bA
	50	413,20dA	181,63dB	25,71cB	33,32bB	0,397dB	0,574cA
AIA	512	734,00aA	440,00aB	39,31aA	34,20aB	0,499aB	0,678aA
	288	612,31bA	438,71aB	31,92bA	30,12bB	0,495aB	0,633bA
	128	589,80cA	378,11bB	31,31bA	27,69cB	0,475bB	0,622cA
	50	567,15cA	332,42bB	29,00bA	27,68cB	0,353cB	0,564dA
TIBA	512	687,07aA	556,70aB	43,44aA	31,99aB	0,569aB	0,648aA
	288	563,53bA	518,33bB	38,55bA	29,38bB	0,477bB	0,627bA
	128	543,62bA	387,35cB	31,63cA	25,68cB	0,448cB	0,645aA
	50	495,96cA	343,30dB	28,53cA	24,87cB	0,407dB	0,577cA
NPA	512	718,83aA	628,90aB	39,13aA	39,34aA	0,484aB	0,662aA
	288	695,37bA	386,18bB	31,92bA	30,36bA	0,474bB	0,633bA
	128	502,79cA	347,53cB	30,34bA	25,44cB	0,423cB	0,588cA
	50	492,44cA	336,81cB	25,54cA	24,16cA	0,365dB	0,505dA
Dopamina	512	637,16aA	467,96aB	40,46aA	31,33aB	0,502aB	0,688aA
	288	538,08bA	364,41bB	33,65bA	27,79bB	0,500aB	0,642bA
	128	501,54cA	364,40cB	31,10cA	25,36cB	0,422bB	0,607cA
	50	444,98dA	324,46dB	30,14cA	24,69cB	0,413bB	0,573dA

En el lote tratado con AIA (Figura 4.5B) la materia seca de raíces del sistema tradicional no presentó la respuesta típica al tamaño de celda, en el caso de las bandejas con mayor número de celdas (512 y 288 celdas bandeja⁻¹) el peso seco alcanzado fue similar al de las bandejas con 50 y 128 celdas, distinto a lo encontrado en los testigos correspondientes al mismo sistema y al sistema flotante. Las raíces del sistema flotante no solo no respondieron al número de celdas por bandeja, sino que también arrojaron valores levemente menores que el sistema tradicional, en particular en las plantas provenientes de las bandejas con 50 celdas, es decir, la de volumen de celda menos restrictivo. Comparando este caso con las raíces de testigos tanto del sistema tradicional como del flotante, se notó un aumento de materia seca en bandejas con 512 y 288 celdas y una reducción en las de 50 y 128 celdas.

En la parte aérea de las plantas del sistema tradicional, las asperjadas con AIA (Figura 4.5B), si bien hubo respuesta al número de celdas bandeja⁻¹, el comportamiento no fue

exactamente el mismo que en aquellas sin asperjado bajo el mismo sistema, observándose una tendencia similar a acumular materia seca. Cuando se asperjó con AIA a plantas creciendo en un sistema flotante, se perdió la respuesta típica de la materia seca aérea al número de celdas bandeja⁻¹ y hasta se observaron reducciones de materia seca comparando con el lote de plantas no asperjadas del sistema flotante.

En las Figuras 4.5C, 4.5D y 4.5E correspondientes a los casos de plantas tratadas con los inhibidores del transporte de auxinas (TIBA y NPA) y de síntesis de citocininas (dopamina), se observaron las respuestas más erráticas. Es de resaltar la pérdida de respuesta al número de celdas por bandeja en la parte aérea de las plantas propagadas en el sistema tradicional, sin que se afecte el comportamiento de la raíz respecto los testigos. Cuando se asperjó con TIBA, el sistema flotante mostró los menores valores absolutos de materia seca radical además de una falta de respuesta al número de celdas por bandeja. Los tratamientos con los antagonistas del transporte de auxinas y de síntesis de citocininas endógenas bajo el sistema flotante provocaron reducciones de materia seca aérea en relación a las plantas sin tratamiento del sistema análogo, que habían sido las de mayor acumulación de biomasa en el momento del trasplante. Los individuos bajo el sistema flotante, asperjados con inhibidores generaron, no obstante, mayor peso seco aéreo que los testigos y los tratados con AIA del sistema clásico.



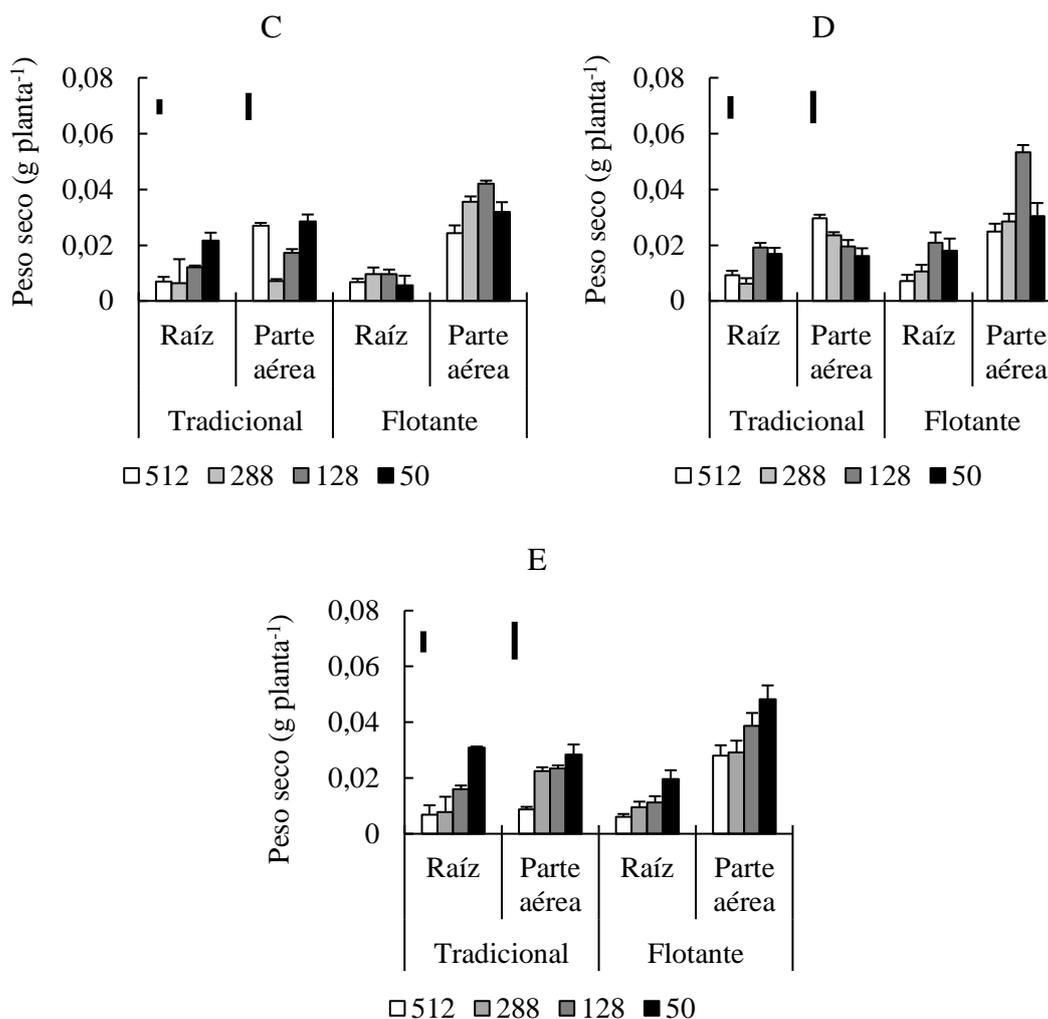


Figura 4.5. Efecto del número de celdas bandeja⁻¹, el sistema de propagación (A), el asperjado con AIA (B) e inhibidores del transporte de auxinas (TIBA, C; NPA, D) y la síntesis de citocininas endógenas (dopamina = E) sobre la acumulación de peso seco particionado en el momento del trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. Sobre cada barra se indica el error estándar del peso seco de raíces y parte aérea. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Testigo - Raíz}} = 0,00522 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Testigo - Parte aérea}} = 0,01080 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{AIA - raíz}} = 0,00440 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{AIA - Parte aérea}} = 0,01216 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{TIBA - Raíz}} = 0,00524 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{TIBA - Parte aérea}} = 0,00936 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{NPA - Raíz}} = 0,00809 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{NPA - Parte aérea}} = 0,01157 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Dopamina - Raíz}} = 0,00752 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Dopamina - Parte aérea}} = 0,01342 \text{ g planta}^{-1}$

Se halló una correlación negativa entre SLA sobre una base de peso fresco y NAR tanto en el sistema flotante ($r^2 = 0,960$; $P < 0,001$) como en el tradicional ($r^2 = 0,792$; $P < 0,001$) (Figura 4.6).

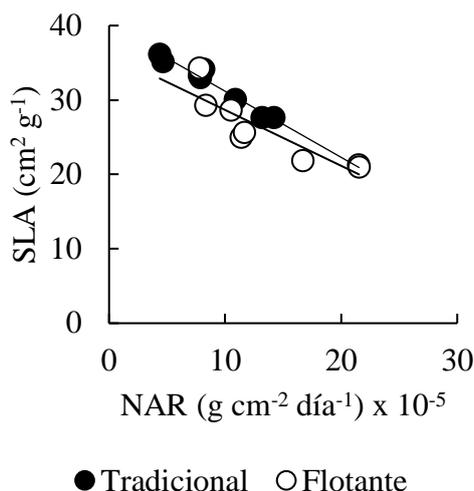


Figura 4.6. Relación entre el área foliar específica sobre una base de peso fresco (SLA-fresco) y la tasa de asimilación neta (NAR) al momento de trasplante en plantas de *Impatiens walleriana* propagadas en un sistema tradicional (puntos llenos) o uno flotante (puntos vacíos), en bandejas con distinto número de celdas y asperjadas con AIA, TIBA, NPA o dopamina. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $SLA_{\text{Fresco - Tradicional}} = 0,889 \text{ NAR} + 40,06$ ($r^2 = 0,960$; $P < 0,001$); $SLA_{\text{Fresco - Flotante}} = 0,756 \text{ NAR} + 36,16$ ($r^2 = 0,792$; $P < 0,001$).

4.3. DISCUSIÓN

Aunque los reguladores del crecimiento de las plantas, como las auxinas y las citocininas, juegan un papel importante en el crecimiento y desarrollo, se sabe poco sobre sus funciones en la manifestación de los componentes del crecimiento de muchas especies bajo cultivo intensivo. El efecto del estrés abiótico en los puntos de control de las vías de las auxinas y las citocininas podría explicar en parte los cambios inducidos por el estrés en la arquitectura de las plantas y los patrones de crecimiento (Bielach et al., 2017). Sin embargo, los efectos de la restricción radical durante la etapa de “plantinera” como fuente de estrés abiótico han sido poco estudiados fuera de nuestro equipo de investigación (Di Benedetto et al., 2020a, b).

Resultados anteriores en *I. walleriana* han demostrado que el área foliar total en la etapa de trasplante aumenta de acuerdo con una disminución del número de celdas por bandeja (Di Benedetto et al., 2020a, b). Sin embargo, según los datos de mi proyecto durante la etapa de pre-trasplante, los valores más altos de área foliar total se registraron en las plantas del sistema flotante, en concordancia con lo mostrado en el capítulo 3. En ambos sistemas de propagación (tradicional y flotante), AIA incrementó el área foliar, mientras que TIBA y NPA la redujeron. El asperjado con dopamina (un inhibidor de la síntesis de citocininas) también disminuyó el área foliar expandida en el momento del trasplante (Figura 4.1). Hanaa y Safaa (2019)

observaron que la aplicación de 100 mg L^{-1} de AIA (la misma cantidad de AIA utilizada en mis experimentos) condujo a un área foliar máxima en plantas de trigo. Por otro lado, la respuesta a la dopamina refuerza la participación de las citocininas endógenas en el proceso de acumulación de biomasa.

El patrón espacial de acumulación de auxinas a nivel tisular se genera mediante una combinación de biosíntesis de auxina localizada y transporte no polar (en áreas de alta concentración de auxina) y polar a través de las células. TIBA y NPA inhiben potencialmente el movimiento direccional de la auxina y bloquean las respuestas de la planta mediadas por el transporte de auxinas endógenas en diferentes puntos del proceso de síntesis (Dhillon et al., 2018; Fukui & Hayashi, 2018).

Las diferencias en el área foliar total al final de la etapa de propagación en bandejas multicelda podrían explicarse por cambios en RLA y en RLAER, que fueron significativamente más altos en las bandejas con menor número de celdas en el sistema flotante y en las plantas asperjadas con AIA. Por otro lado, TIBA, NPA y dopamina generaron una disminución tanto en RLA como en RLAER con respecto a los controles y a una disminución aún mayor que en las plantas asperjadas con AIA. El efecto del inhibidor de la síntesis de citocininas (dopamina) fue mayor sobre RLA que sobre RLAER (Cuadro 4.1).

Los estudios de las últimas dos décadas han demostrado que las auxinas juegan un papel crucial en la iniciación de las hojas. En las plantas de tomate, por ejemplo, Xiong y Jiao (2019) encontraron que los ápices de los brotes vegetativos tratados con el inhibidor del transporte de auxinas NPA no lograban formar primordios foliares, mientras que el meristema continuaba generando tejido del tallo, lo que conducía a la formación de una estructura similar a un vástago carente de hojas.

Las hojas se inician en los flancos del meristema apical del tallo, con hojas sucesivas que surgen en la posición de una máxima concentración de auxinas. A su vez, las concentraciones máximas se logran a través del portador de eflujo de auxina PIN1, que dirige la auxina hacia los sitios de iniciación de acuerdo con un circuito de retroalimentación entre la señalización de las auxinas y la polaridad del PIN1 (Heisler & Byrne, 2020). El aumento de RLA y RLAER en *I. walleriana* en plantas asperjadas con AIA y la disminución en las plantas asperjadas con TIBA y NPA podrían explicarse por los cambios en los niveles de auxina

endógena en el meristema apical del brote. La disminución en RLA y RLAER cuando las plántulas se asperjan tempranamente con dopamina es una respuesta adicional a la documentada sobre el efecto de las citocininas frente a una restricción radical (Di Benedetto et al., 2020a, b).

Al igual que el área foliar, tanto el peso fresco como el peso seco mostraron un patrón de respuesta similar. Los valores más altos de peso fresco en el sistema tradicional se encontraron en las plantas asperjadas con AIA cultivadas en las bandejas con menor número de celdas (Figura 4.3A). El sistema flotante aumentó significativamente las diferencias entre los tratamientos (Figura 4.3B). Nuevamente, las plantas asperjadas con TIBA, NPA y dopamina disminuyeron el peso fresco incluso en comparación con los testigos no tratados, aunque en diferente medida entre los tres inhibidores hormonales. Cuando los resultados se compararon sobre una base de peso seco, las diferencias entre los testigos y las plantas asperjadas con AIA se redujeron, pero el efecto negativo de TIBA, NPA y dopamina en las plántulas siguió siendo muy significativo (Figuras 4.3C, D y E). Como describen Demmig-Adams et al. (2018), la alta productividad de las plantas en cualquier entorno depende de las altas actividades de tres funciones clave:

- la capacidad fotosintética de las hojas fuente
- las capacidades de los haces vasculares exportadores de azúcar de las fuentes (predominantemente hojas en especies de ciclo corto) e importadores de agua
- la actividad de los órganos de reserva de las plantas.

Durante la etapa de pre-trasplante, la acumulación de biomasa estimada a través del RGR mostró una respuesta positiva a una disminución del número de celdas por bandeja, con el sistema flotante con mayores diferencias significativas con respecto al sistema tradicional. Una vez más, una sola aplicación temprana (dos pares de hojas expandidas) de AIA aumentó la RGR, mientras que las aplicaciones únicas de TIBA, NPA y dopamina la redujeron.

El mecanismo fisiológico responsable de este resultado parecería ser la capacidad fotosintética de la planta, de acuerdo con la estrecha relación entre tasa fotosintética y NAR (Carnelos et al., 2022). Los datos de NAR en mis experimentos mostraron cambios coordinados con los aumentos y disminuciones en RGR. De la misma forma, el SLA sobre una base de peso fresco (un estimador del espesor de la hoja), estaría correlacionado con el RGR (Cuadro 4.1). La estrecha relación negativa entre NAR y SLA también respaldaría esta hipótesis (Figura 4.4).

La mayor parte de estas correlaciones son similares a las encontradas en otros experimentos con diferentes especies ornamentales (Gandolfo et al., 2014; Di Benedetto et al., 2015a; Molinari et al., 2018, 2019; Piotti et al., 2018; De Lojo et al., 2019b, 2021; Lozano Miglioli et al., 2019; Di Benedetto et al., 2020c; Pagani et al., 2020; Hakim et al., 2022) y hortícolas (Di Matteo et al., 2015; Gerasi et al., 2018; Salinas et al., 2019; Campolongo et al., 2020; Chertok et al., 2020; Carnelos et al., 2022).

Li et al. (2019) demostraron que el AIA exógeno podría mejorar la tasa fotosintética neta en *Zizania latifolia* y que TIBA podría disminuir los contenidos de sacarosa, glucosa, fructosa y azúcar soluble total, mientras que Mir et al. (2020) sugirieron que una aplicación foliar de AIA en plantas de *Brassica juncea* modulaba la fotosíntesis. Para explicar estos resultados, McAdam et al. (2017) vincularon la biosíntesis de auxinas con la tasa fotosintética máxima.

Además, la modulación de la organización vascular foliar tiene el potencial de ayudar a optimizar la productividad de las plantas y la tolerancia al estrés biótico y abiótico (Demmig-Adams et al., 2018). De esta forma, las auxinas se han relacionado directamente con el desarrollo del sistema vascular (Burian et al., 2021).

Aunque las auxinas y las citocininas interactúan en el control del crecimiento de las plantas (Bielach et al., 2017), las auxinas juegan un papel central entre las hormonas vegetales (Hussain et al., 2021), los datos sobre aplicaciones exógenas combinadas son escasos (Di Benedetto et al., 2015b, 2018; Molinari et al., 2018, 2019). En cualquier caso, mis resultados con inhibidores de la síntesis de citocininas y del transporte de auxinas indican la clara participación de ambas hormonas endógenas en el funcionamiento fisiológico de *Impatiens walleriana* durante la etapa de propagación en bandejas multicelda.

No obstante la restricción radical asociada con el tamaño de la celda en una bandeja multicelda es crítica durante la propagación de plantas ornamentales y hortícolas, no es un estrés abiótico que generalmente se aborda en la literatura. Los experimentos realizados en nuestro grupo de investigación han aportado información importante sobre la participación de hormonas endógenas y el efecto de las aplicaciones exógenas con reguladores del crecimiento sintéticos. Mis resultados han demostrado además claramente la participación de auxinas y citocininas endógenas y el potencial uso de auxinas sintéticas para superar esta restricción

radical inicial. Sin embargo, antes de hacer recomendaciones comerciales, es necesario evaluar los posibles efectos pos-trasplante de estos tratamientos en la generación de rendimiento de *Impatiens walleriana*, aspecto que se abordará en el próximo capítulo.

CAPÍTULO 5

Efecto de la restricción radical en pos-trasplante sobre la acumulación y partición de biomasa.

5.1. INTRODUCCIÓN

La sustitución de la siembra directa por el uso de bandejas multicelda ha significado un importante avance tecnológico para la producción de plantas bajo cultivo intensivo. Sin embargo, la restricción radical, que se genera por un aumento en el número de celdas por bandeja en el pre-trasplante afecta no solo el crecimiento pre-trasplante sino también la acumulación de biomasa post-trasplante (Di Benedetto et al., 2020a, b). Una primera opción para el propagador es utilizar bandejas con un número reducido de celdas, aunque eso afecta sensiblemente el rendimiento comercial del establecimiento.

El estrés abiótico asociado con el número de celdas en la bandeja multicelda se genera cuando el enrollamiento de la raíz alrededor de la celda en la bandeja reduce la ramificación radical, por lo que la síntesis de citocininas endógenas se vería afectada en paralelo (Di Benedetto et al., 2006). La hipótesis de las citocininas en el control de la restricción radical fue validada con las aplicaciones exógenas de citocininas sintéticas (BAP) y el uso de inhibidores de la síntesis de citocininas endógenas (dopamina) y constituye una segunda alternativa para eliminar parcialmente la restricción radical producida por un tamaño celular pequeño. Sin embargo, el asperjado foliar con BAP debe realizarse temprano en la ontogenia de la planta (dos hojas completamente expandidas) y la respuesta depende de la dosis aplicada y la especie considerada (Di Benedetto et al., 2020a).

El uso de sistemas flotantes ha permitido disminuir el efecto del tamaño reducido de las celdas en las bandejas a medida que aumenta el número de celdas en ellas, posiblemente al permitir una mayor concentración de citocininas que alcanzan el ápice vegetativo, convirtiéndose en una tercera alternativa para superar este estrés abiótico en *Impatiens walleriana* (Capítulo 3).

En el Capítulo 4, se comprobó la participación de las auxinas como agentes capaces de reducir la restricción radical durante la etapa de propagación pre-trasplante en *I. walleriana* utilizando inhibidores del transporte de auxinas como el ácido naftilftalámico (NPA) y el ácido triyodobenzoico (TIBA). Se ha indicado que el crecimiento y desarrollo del sistema radical es el resultado de una interacción entre los niveles de hormonas; básicamente la relación entre las

auxinas endógenas y las citocininas. Datos de Di Benedetto et al. (2015b, 2018) y Molinari et al. (2020) apoyan esta hipótesis en plantas ornamentales. Por otra parte, datos no publicados aún de nuestro grupo de investigación sugieren que, aunque tanto las citocininas como las auxinas son capaces de disminuir la restricción radical, lo hacen a través de diferentes mecanismos fisiológicos.

En mi proyecto de maestría he combinado bandejas con diferente número de celdas en dos sistemas de propagación que determinan diferentes grados de estrés abiótico mecánico para verificar si asperjado foliar con AIA durante el pre-trasplante es capaz de aumentar la acumulación de biomasa pos-trasplante en *Impatiens walleriana* y convertirse en una nueva alternativa para superar este estrés tecnológico de restricción radicular que beneficiaría tanto a propagadores como productores de plantas ornamentales en maceta.

5.2. RESULTADOS

Al final de experimento (70 días posteriores al trasplante), los controles en el sistema flotante tuvieron áreas foliares superiores para todos los tamaños de bandeja evaluados (512, 288, 128 y 50 celdas) respecto los testigos de sistema tradicional (Figura 5.1A).

Las mayores áreas foliares correspondieron a plantas tratadas con AIA bajo el sistema flotante, mientras que cuando se aplicó dicho regulador en el sistema tradicional los valores registrados fueron inferiores, lo que demuestra un efecto sinérgico entre los dos factores evaluados. El asperjado con AIA incrementó la superficie foliar en ambos sistemas, cuando no se aplicó dicho regulador en plantas del sistema tradicional, se observaron los valores mínimos de área foliar pos-trasplante para plantas provenientes de bandejas con cuatro número de celdas diferentes (Figura 5.1A).

Analizando solo el efecto del factor número de celdas por bandeja, se pudo observar una respuesta positiva del área foliar al disminuir el número de celdas para todos los tratamientos (Figura 5.1A).

RLA en el sistema flotante (situación control) superó en todos los tamaños de celda al sistema tradicional a lo largo del experimento (Figura 5.1B). De la misma manera que ocurrió con el área foliar total, las máximas RLA correspondieron a la combinación sistema flotante y

asperjado con AIA en los cuatro números de celdas por bandeja evaluados. El tratamiento exógeno con AIA aumentó RLA en los dos sistemas respecto sus testigos, sin embargo, la magnitud de las diferencias entre estos dos tratamientos fue visiblemente menor que las que se dieron en el área foliar. Por otro lado, las plantas testigos en el sistema flotante, aunque ligeramente inferior en algunos casos, logró equiparar a los tratamientos con AIA (Figura 5.1B).

Se observó una tendencia de incrementar RLA a medida que el número de celdas por bandeja era menor, de todos modos esa diferencia no fue tan pronunciada como las obtenidas en el área foliar para ciertos tamaños de celda (Figura 5.1B).

La expansión foliar reflejada en RLAER demostró ser superior en los controles del sistema flotante en comparación con los del sistema tradicional, situación que se dio en todos los tamaños de bandeja analizados (Figura 5.1C).

A pesar de que los máximos valores de RLAER correspondieron a plantas del sistema flotante tratadas con AIA, el mismo tratamiento exógeno en el sistema tradicional arrojó valores semejantes aunque ligeramente inferiores. Respecto los testigos el uso de este regulador siempre aumentó RLAER (Figura 5.1C).

Al igual que en las dos variables previamente analizadas, a medida que el número de celdas disminuía RLAER aumentaba, situación que ocurrió en todos los sistemas y tratamientos exógenos con AIA (Figura 5.1C).

En la Figura 5.1D se observa que el sistema flotante redujo SLA-fresco para los cuatro números de celda evaluados al comparar con la situación control del sistema tradicional, siendo este último caso el que presentó los máximos valores de SLA-fresco. Los valores mínimos de SLA-fresco para los tamaños de bandeja de 50, 128, 288 y 512 celdas se alcanzaron cuando se aplicó AIA en las plantas correspondientes al sistema flotante. Tanto en el sistema tradicional como el flotante el uso de este regulador de crecimiento en pre-trasplante redujo SLA-fresco en comparación con las situaciones control correspondientes en el pos-trasplante (Figura 5.1D).

Se hallaron correlaciones positivas entre el área foliar por planta a los 70 días del trasplante y RLA para el sistema tradicional ($r^2 = 0,886$; $P < 0,001$) y flotante ($r^2 = 0,975$; $P < 0,001$) (Figura 5.1E). De la misma forma se hallaron correlaciones positivas entre el área foliar

por planta y RLAER tanto en el sistema tradicional ($r^2 = 0,862$; $P < 0,001$) como flotante ($r^2 = 0,701$; $P < 0,001$) (Figura 5.1F). Según las ecuaciones correspondientes a se observó una mayor pendiente y por lo tanto un mayor impacto absoluto de RLAER sobre el área foliar que RLA, tanto en el sistema tradicional como flotante.

En la Figura 5.2A se observa el peso fresco a los 70 días pos-trasplante. Comparando las situaciones control del sistema tradicional y flotante, se registraron aumentos para esta variable para los cuatro números de celdas por bandejas a favor del sistema flotante.

Cuando se aplicó AIA en el sistema flotante se alcanzaron las máximas acumulaciones de materia fresca en los cuatro números de celdas por bandeja evaluados. Tanto en el sistema tradicional como en el flotante el solo uso de este regulador de crecimiento promovió plantas con mayor peso fresco al final del experimento en relación a sus respectivos controles (Figura 5.2A). A pesar del cambio de sistema o del uso de AIA o no, al final del experimento se mantuvo una clara relación entre el número de celdas por bandeja y la materia fresca total acumulada para la mayoría de los tratamientos (Figura 5.2A).

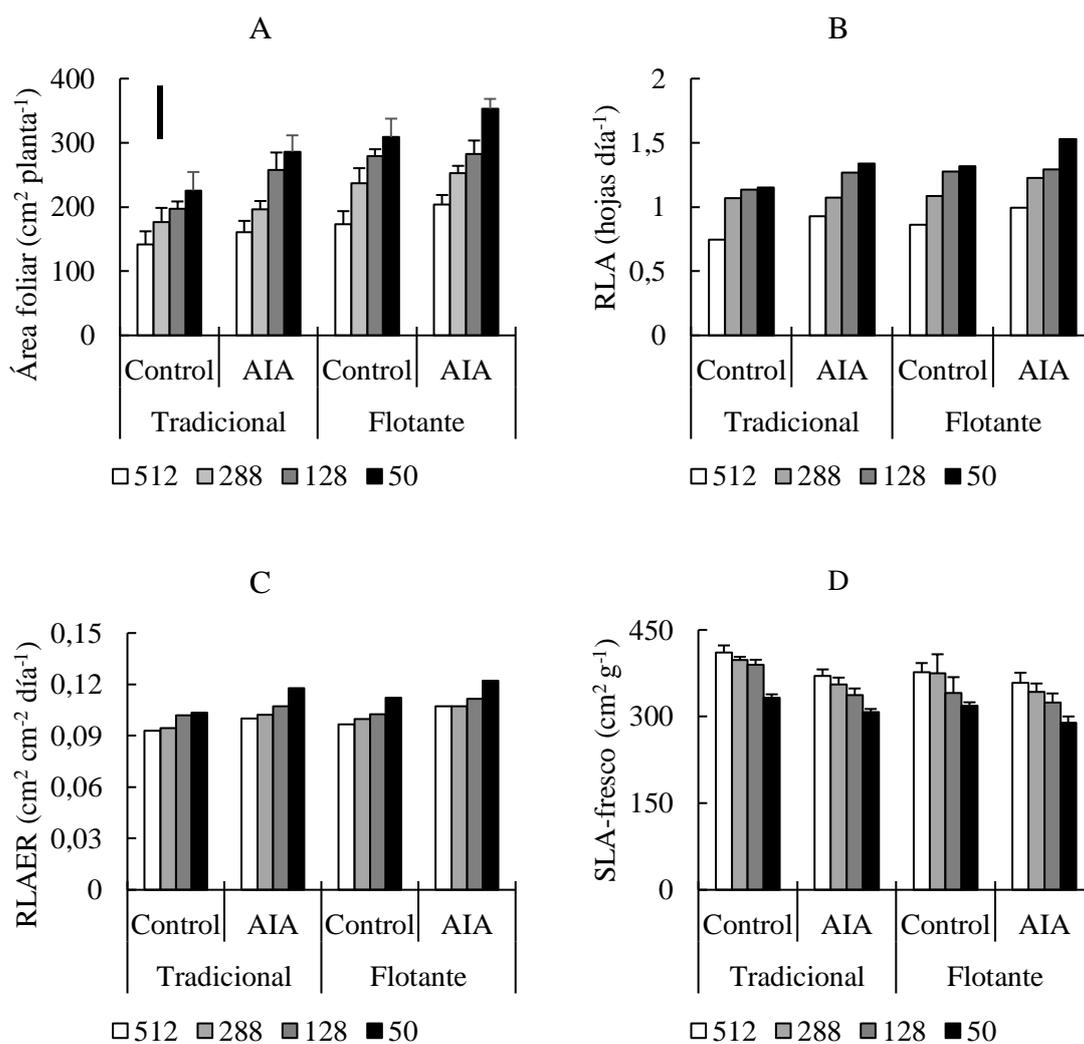
Al analizar el peso seco particionado al final del experimento entre los controles propagados a través del sistema flotante (Figura 5.2E) y el tradicional (Figura 5.2C) se pudo observar que la sumatoria de cada órgano en materia seca fue superior, para todos los números de celdas por bandeja, en las plantas provenientes del sistema flotante. Las diferencias fueron atribuidas principalmente a mayor acumulación de peso seco en raíces y hojas en el sistema flotante. A pesar de que el aporte al peso seco total de los órganos reproductivos no es alto, los testigos del sistema flotante tuvieron tendencia a presentar valores de materia seca de flores mayores en todas las plántulas provenientes de bandejas con diferente número de celdas evaluadas. Por último el peso seco de tallos presentó menor variación entre sistemas en las bandejas con 128 y 50 celdas, pero mayor en las bandejas con 512 y 288 celdas a favor de sistema flotante.

Las plantas asperjadas con AIA en el sistema flotante fueron las que alcanzaron los máximos peso seco total en las bandejas con diferente número de celdas (512, 288, 128 y 50 celdas bandeja⁻¹) (Figura 5.2D). Respecto los controles del mismo sistema, los pesos secos totales fueron un 22, 11, 14 y 11% mayores para las bandejas de 50, 128, 288 y 512 celdas respectivamente (Figuras 5.2D y E). Las diferencias estuvieron relacionadas con una mayor

biomasa en cada uno de los órganos evaluados, destacando el aporte de las flores que fue el más alto del experimento.

Al comparar las plantas asperjadas con AIA del sistema tradicional contra las control del mismo sistema (Figuras 5.2B y C), se pudieron observar mayores peso seco total solo en las bandejas de 50 y 288 celdas (21 y 23% más de peso seco total respectivamente) a favor del tratamiento con AIA, con diferencias debidas a hojas y raíces en las bandejas de 50 celdas por bandeja y raíces y tallos en las de 288 celdas por bandeja.

En cada sub-figura analizada de la Figura 5.2 se verifica una tendencia, en muchos casos apoyada estadísticamente, de aumento de peso fresco y seco a medida que disminuye el número de celdas por bandeja.



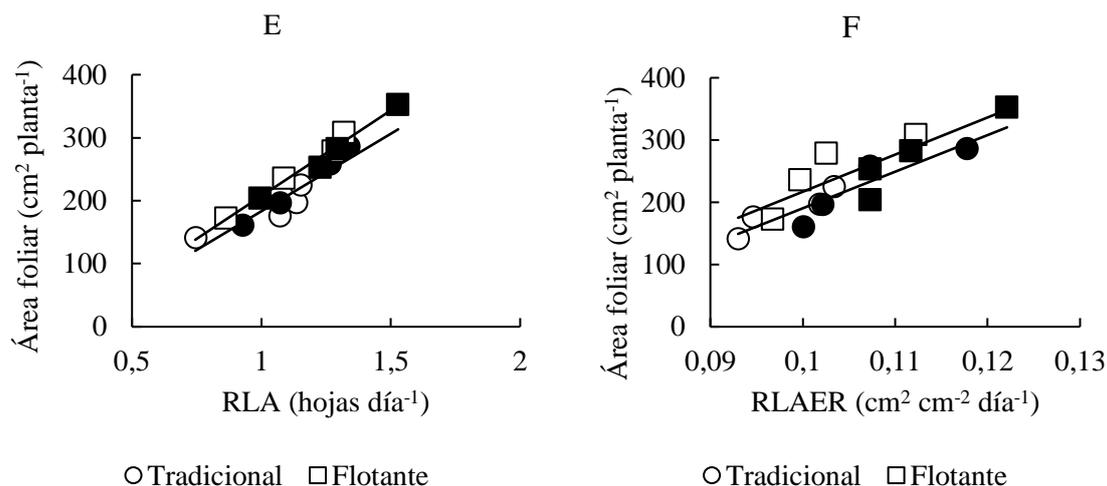


Figura 5.1. Efecto de bandejas multicelda con diferente número de celdas y del sistema de propagación sobre: el área foliar total 70 días después del trasplante (A), RLA (B), RLAER (C) y SLA_{Fresco} (D). Las sub-figuras E y F muestran las relaciones entre RLA, RLAER y el área foliar total al final del pos-trasplante respectivamente. Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $\text{Área foliar}_{\text{Tradicional}} = 245,83 \text{ RLA} - 62,46$ ($r^2 = 0,886$; $P < 0,001$); $\text{Área foliar}_{\text{Flotante}} = 271,73 \text{ RLA} - 64,25$ ($r^2 = 0,975$; $P < 0,001$); $\text{Área foliar}_{\text{Tradicional}} = 5880,8 \text{ RLAER} - 397,73$ ($r^2 = 0,862$; $P < 0,001$); $\text{Área foliar}_{\text{Flotante}} = 5967,2 \text{ RLAER} - 379,78$ ($r^2 = 0,701$; $P < 0,001$). Sobre cada barra se indica el error estándar. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $LSD_{\text{Área foliar} - \text{Tradicional}} = 96,07 \text{ cm}^2 \text{ planta}^{-1}$; $LSD_{\text{Área foliar} - \text{Flotante}} = 88,31 \text{ cm}^2 \text{ planta}^{-1}$; Símbolos: testigos (vacíos); AIA (llenos). Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Área foliar}} = 83,28 \text{ cm}^2 \text{ planta}^{-1}$.

En la Figura 5.3A comparando las situaciones sin asperjado con AIA (testigos), se encontró que las mayores RGR para las plantas provenientes de bandejas con diferente número de celdas evaluados se obtuvieron en las plantas del sistema flotante. El uso de AIA incrementó RGR por sobre los testigos respectivos en los dos sistemas de propagación, aunque fue en el sistema flotante donde ocurrieron las máximas RGR, independientemente del número de celdas por bandeja.

Al comparar los controles del sistema flotante y el tradicional, los valores de NAR fueron mayores en todas las bandejas independientemente del número de celdas de cada una para el sistema flotante (Figura 5.3B). En la misma figura, respecto a la situación control correspondiente, el tratamiento con AIA incrementó RGR de manera uniforme, manteniéndose además el efecto del número de celdas por bandeja. En el sistema flotante también se verificó un aumento de RGR con AIA en relación a sus testigos pero no fue tan clara la tendencia entre cambios de RGR y el número de celdas por bandeja como en el caso anterior. Por otro lado los máximos de NAR fueron compartidos entre las plantas asperjadas con AIA del sistema

tradicional y flotante habiendo solo una diferencia considerable en las plantas provenientes de bandejas de 512 celdas.

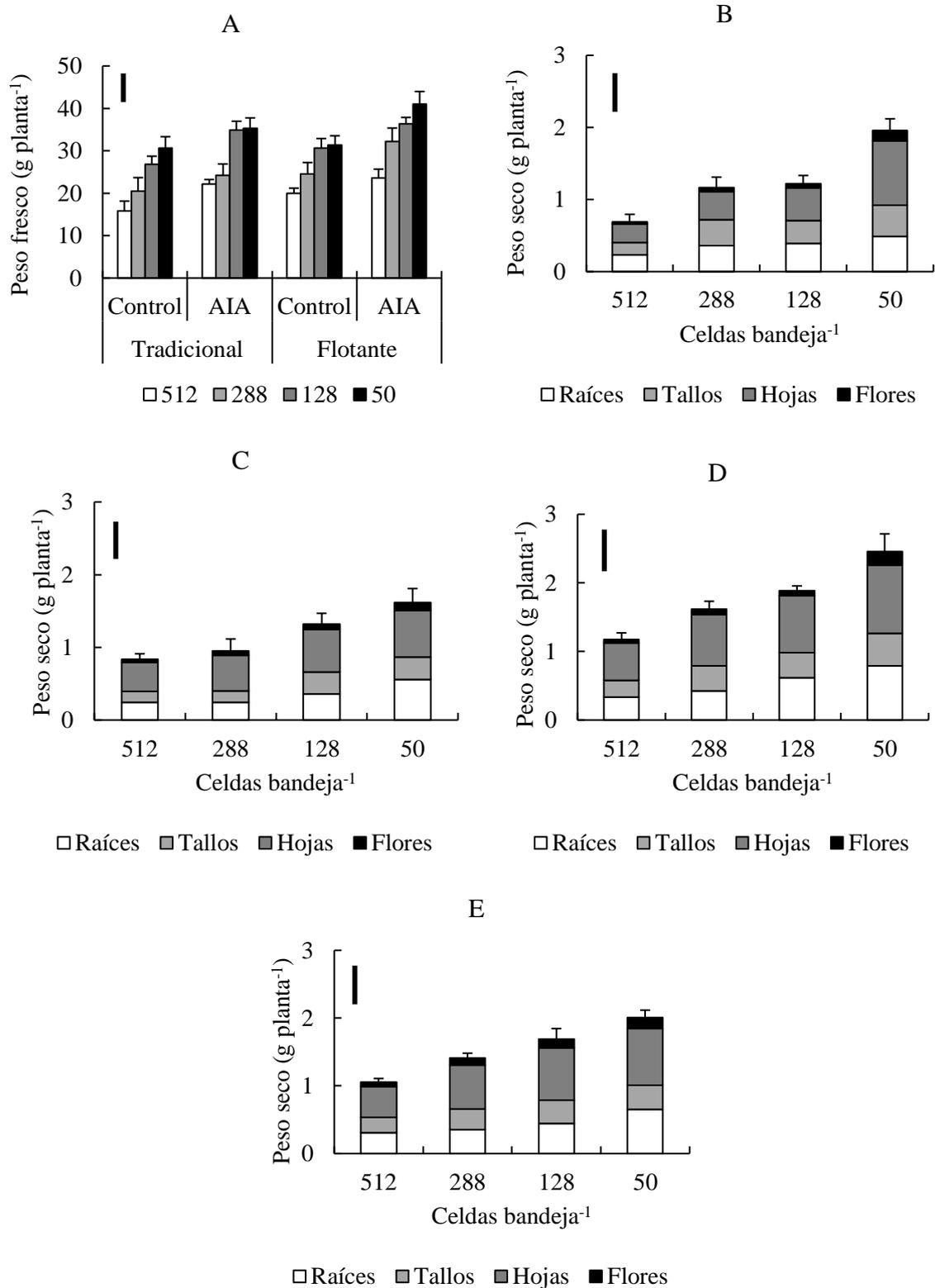
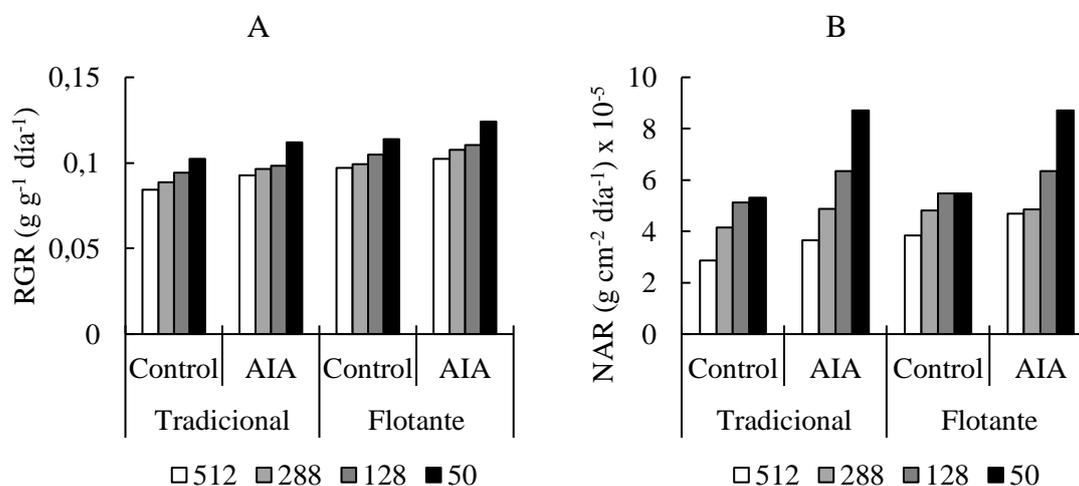


Figura 5.2. Efecto de bandejas multicelda con diferente número de celdas y el sistema de propagación sobre el peso fresco (A) y seco (B, C, D y E) a los 70 días pos-trasplante en plantas de *Impatiens walleriana*. El análisis del peso seco incluyó los testigos sin tratamiento (C y E)

y las plantas asperjadas con AIA (B y D) conducidos en forma tradicional (B y C) o dentro de un sistema flotante (D y E). Sobre cada barra se indica el error estándar del peso seco total. Se indica la mínima diferencia significativa obtenida con la prueba LSD de Fischer ($\alpha = 0,05$): $DMS_{\text{Peso fresco total}} = 6,71 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Peso seco total - AIA - Tradicional}} = 0,53750 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Peso seco total - AIA - Flotante}} = 0,61362 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Peso seco total - Testigo - Tradicional}} = 0,51195 \text{ g planta}^{-1}$; $DMS_{\text{Peso seco total - Testigo - flotante}} = 0,57328 \text{ g planta}^{-1}$.

LAR no tuvo el mismo comportamiento que NAR (Figura 5.3C). Cuando las plántulas no se asperjaron en pre-trasplante con AIA, en el sistema flotante se dieron menores valores de LAR para todos los números de celda por bandeja en comparación con el sistema tradicional. En este último se verificaron además los máximos valores de LAR en las bandejas con 128 y 50 celdas. En esta figura se observa que el asperjado con AIA mostró una disminución de LAR al contrastar las plantas tratadas, para bandejas con diferente número de celdas, con las de los testigos en cada sistema de propagación. En el sistema tradicional AIA aumento levemente LAR para los tamaños de bandeja de 512 y 288 celdas, mientras que la redujo en las de 128 y 288 celdas. En el sistema flotante se verificó una reducción de LAR en las bandejas con 50 celdas ante el tratamiento con AIA, mientras que para el resto de las bandejas el resultado fue un incremento del estimador del crecimiento.

El coeficiente β de la alometría raíces: parte aérea fue menor en los testigos del sistema flotante en comparación con los del tradicional (Figura 5.4A). Las plantas que provenían de lotes tratados con AIA, en relación a las no tratadas del respectivo sistema de propagación, redujeron el coeficiente β , encontrando los mínimos para los cuatro números de celdas por bandeja en el sistema flotante y asperjado con AIA (Figura 5.4A). A medida que disminuye β , aumenta la partición hacia parte aérea y viceversa.



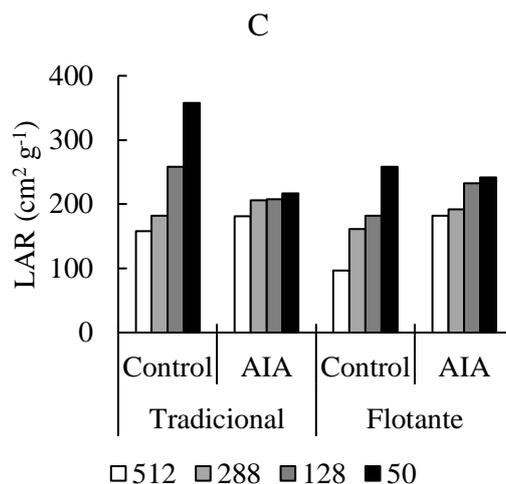


Figura 5.3. Efecto de bandejas multicelda con diferente número de celdas y el asperjado o no con AIA sobre RGR (A), NAR (B) y LAR (C) en dos sistemas de propagación en plantas de *Impatiens walleriana*.

El coeficiente β de la relación alométrica entre hojas: tallos (Figura 5.4B) presentó menor variación que el anterior mencionado. Sin embargo entre los testigos de los dos sistemas, el flotante mostró menores valores de β . Cuando se asperjó con AIA, en contraste con los testigos correspondientes a cada sistema, se registraron caídas del coeficiente β . Una disminución de β , modifica la partición a favor de los tallos (ápice de crecimiento vegetativo).

La relación raíces/parte aérea (Figura 5.4C) calculada para la cosecha final, presentó una disminución, aunque no siempre estadísticamente significativa, para todas las bandejas con diferente número de celda, cuando las mismas provenían del sistema flotante, excluyendo el tratamiento con AIA. Los lotes tratados con AIA respecto los testigos sin asperjado de cada sistema, mostraron caídas de la relación raíces/parte aérea con diferencias de mayor magnitud y significación en las plantas del sistema tradicional.

Todos los tratamientos incluidos en la Figura 5.4 reflejaron con mayor o menor claridad la incidencia del número de celdas por bandeja sobre los dos coeficientes calculados y la relación raíces/parte aérea.

Al graficar NAR en función de RGR (Figura 5.5A) incluyendo las observaciones del sistema flotante, tradicional, con y sin aplicación de AIA, se hallaron correlaciones positivas, tanto para el sistema tradicional ($r^2 = 0,866$; $P < 0,001$) como para el sistema flotante ($r^2 = 0,837$; $P < 0,001$). El sistema tradicional presentó mayor impacto de NAR sobre RGR lo que se refleja en

la mayor pendiente (197,16 RGR vs 154,14 RGR en el sistema tradicional y sistema flotante respectivamente).

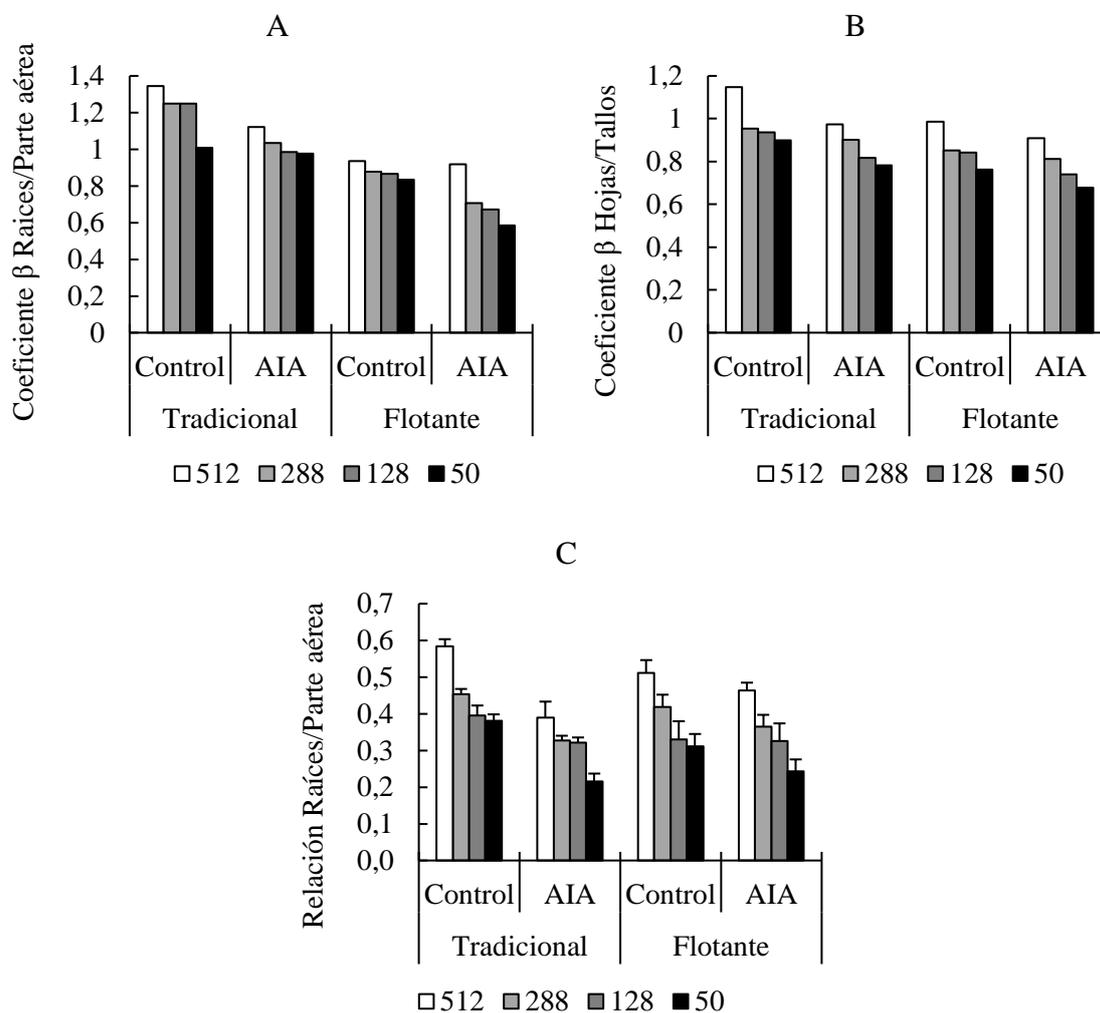
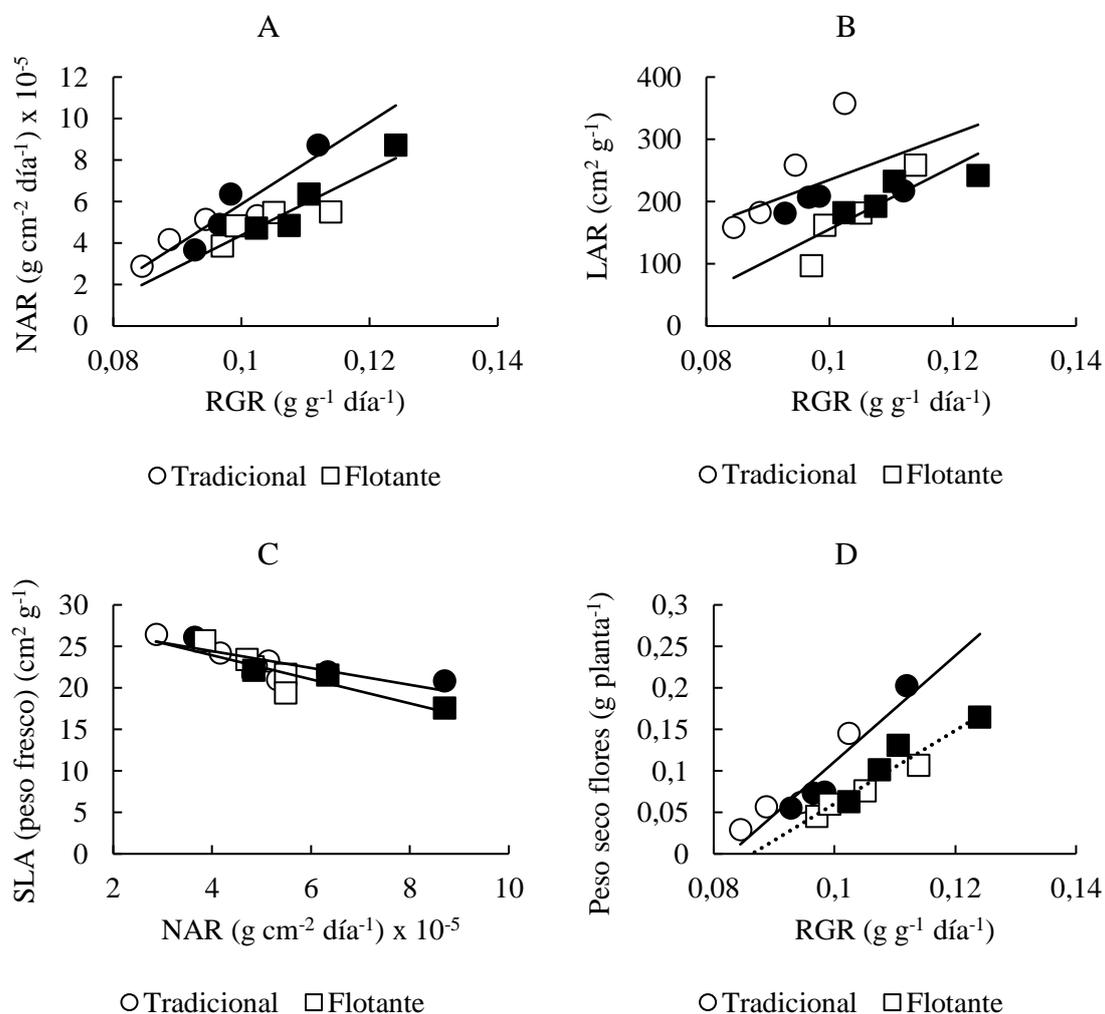


Figura 5.4. Efecto de bandejas multicelda con diferente número de celdas y el sistema de propagación en plantas de *Impatiens walleriana* sobre las alometrías raíces/parte aérea (A) y hojas/tallos (B) durante el pos-trasplante. La sub-figura C muestra la relación raíces/parte aérea al final de la etapa de pos-trasplante. Sobre cada barra se indica el error estándar de la relación Raíces/Parte aérea.

Se encontró también una relación positiva entre LAR y RGR (Figura 5.5B) para el sistema tradicional ($r^2 = 0,246$; $P < 0,001$) y sistema flotante ($r^2 = 0,729$; $P < 0,001$) con mayor impacto de LAR cuando se trató del sistema flotante.

SLA sobre una base de peso fresco en función de NAR (Figura 5.5C) presentó una relación negativa para el sistema tradicional ($r^2 = 0,729$; $P < 0,001$) y el sistema flotante ($r^2 = 0,762$; $P < 0,001$) con poca distinción entre las regresiones graficadas para cada set de datos.

Se calcularon además las correlaciones relacionadas con el peso seco de las flores (PSF). Esta variable en función de RGR (Figura 5.5D) tuvo una relación positiva tanto para el sistema tradicional ($r^2 = 0,894$; $P < 0,001$) como en el sistema flotante ($r^2 = 0,916$; $P < 0,001$), con una pendiente de 6,385 RGR en el sistema tradicional y 4,413 RGR en el sistema flotante indicando superioridad del sistema tradicional en la acumulación del PSF. De la misma manera se halló una relación positiva entre PSF y NAR (Figura 5.5E) sin diferencias entre las regresiones correspondientes a cada sistema. Por último, se trazó la regresión entre PSF y RLA (Figura 5.5F) observándose una relación positiva tanto para el sistema tradicional ($r^2 = 0,617$; $P < 0,001$) como para el sistema flotante ($r^2 = 0,832$; $P < 0,001$) sin diferencias entre las regresiones ajustadas para cada grupo de datos.



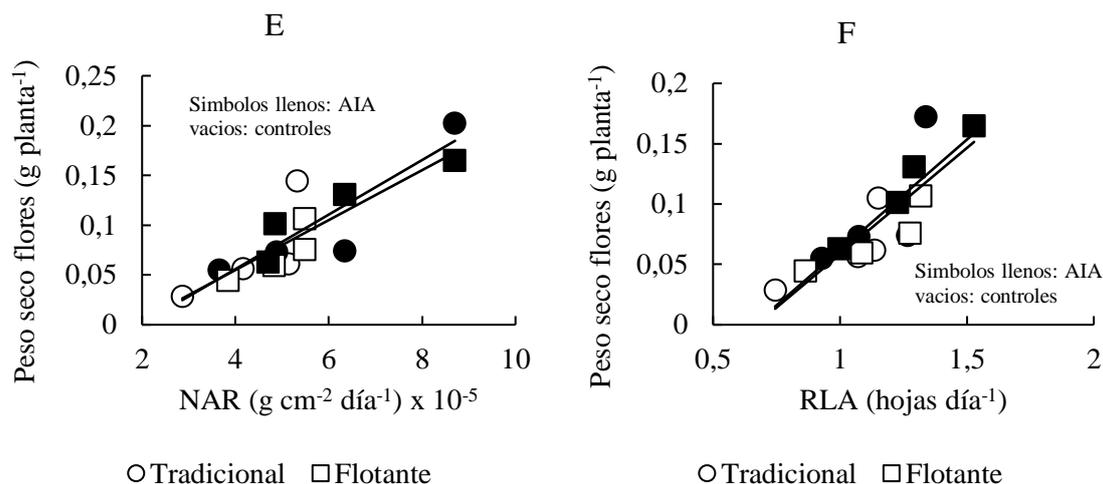


Figura 5.5. Relaciones entre diferentes estimadores del crecimiento para plantas de *Impatiens walleriana* cultivadas en bandejas con diferente número de celdas, cultivadas en dos sistemas de propagación y asperjadas con AIA en pr-trasplante. NAR (A), LAR (B) y RGR, DLS vs. NAR (C) y peso seco de las flores vs. RGR (D), NAR (E) y RLA (F). Testigos (símbolos vacíos), AIA (símbolos llenos). Las ecuaciones de regresión lineal fueron: $NAR_{\text{Tradicional}} = 197,16 \text{ RGR} - 13,84$ ($r^2 = 0,866$); $NAR_{\text{Flotante}} = 154,14 \text{ RGR} - 11,04$ ($r^2 = 0,837$); $LAR_{\text{Tradicional}} = 3667,3 \text{ RGR} - 132,79$ ($r^2 = 0,246$); $LAR_{\text{Flotante}} = 5026,1 \text{ RGR} - 346,94$ ($r^2 = 0,729$; $P < 0,001$); $SLA_{\text{Fresco - Tradicional}} = -1,015 \text{ NAR} + 28,48$ ($r^2 = 0,729$; $P < 0,001$); $SLA_{\text{Fresco - Flotante}} = -1,450 \text{ NAR} + 29,73$ ($r^2 = 0,762$; $P < 0,001$); $PSF_{\text{Tradicional}} = 6,385 \text{ RGR} - 0,527$ ($r^2 = 0,894$; $P < 0,001$); $PSF_{\text{Flotante}} = 4,413 \text{ RGR} - 0,381$ ($r^2 = 0,916$; $P < 0,001$); $PSF_{\text{Tradicional}} = 0,027 \text{ NAR} - 0,053$ ($r^2 = 0,738$; $P < 0,001$); $PSF_{\text{Flotante}} = 0,025 \text{ NAR} - 0,045$ ($r^2 = 0,839$; $P < 0,001$); $PSF_{\text{Tradicional}} = 0,183 \text{ RLA} - 0,121$ ($r^2 = 0,617$; $P < 0,001$); $PSF_{\text{Flotante}} = 0,176 \text{ RLA} - 0,118$ ($r^2 = 0,832$ $P < 0,001$).

5.3. DISCUSIÓN

Para probar la hipótesis de que las auxinas son capaces de disminuir los efectos de una restricción radical pre-trasplante sobre la acumulación de biomasa pos-trasplante, he combinado el efecto de bandejas con diferente número de celdas en dos sistemas de propagación que determinan diferentes grados de estrés abiótico.

En el capítulo 4, se comprobó la participación de las auxinas como agentes capaces de reducir la restricción radical durante la etapa de propagación en *I. walleriana* utilizando inhibidores del transporte de auxinas como el ácido naftilftalámico (NPA) y el ácido triyodobenzoico (TIBA).

Mis resultados muestran que el área foliar total en el pos-trasplante (70 días desde el trasplante) en las plantas testigo (Figura 5.1A) mostraron un aumento de acuerdo con una disminución del número de celdas de la bandeja multicelda utilizada durante la etapa de

propagación en la "plantinera" en concordancia con publicaciones previas (Di Benedetto et al., 2020a, b). Al mismo tiempo, las plantas provenientes de un sistema flotante mostraron valores más altos en la mayoría de plántulas provenientes de bandejas multicelda con los menores números de celdas (Capítulo 3). Los datos del presente capítulo muestran que una sola aspersión de AIA durante el pre-trasplante, incrementó el área foliar en el pos-trasplante. Los valores más altos en la etapa pos-trasplante se encontraron cuando se probaron bandejas con menos celdas dentro de un sistema de propagación flotante (Figura 5.1A).

Cuando se calcularon los estimadores de crecimiento que permiten cuantificar la tasa de aparición de hojas (RLA) (Figura 5.1B) y la expansión relativa del área foliar (RLAER) (Figura 5.1C), permitieron explicar las diferencias en el área foliar total en el pos-trasplante. Al mismo tiempo, el área foliar específica en base al peso fresco (SLA) (Figura 5.1D), que permitió estimar el espesor de la hoja, mostró que a menor número de celdas por bandeja, el sistema flotante y las plantas asperjadas con AIA, se encontraban los mayores espesores de la hoja (aumenta conforme disminuye el SLA) en relación con los testigos sin tratamiento. Por lo general, cuanto mayor es el espesor de la hoja, mayor es la capacidad fotosintética de la misma (Ren et al., 2019). Además, las Figuras 5.1E y 5.1F mostraron que el área foliar total en la etapa de pos-trasplante está directamente relacionada con la capacidad de iniciar (RLA) y expandir hojas (RLAER) sin diferencias entre los sistemas de propagación. El tamaño de cada hoja se incrementa y la duración del plastocrono se reduce a medida que aumenta el tamaño de la planta (Zhang et al., 2021).

Como diferentes hormonas controlan de manera independiente y en combinación el desarrollo de la parte aérea (Durbak et al., 2012) especialmente la división y diferenciación de los meristemas apicales del tallo (Brenner & Schmölling, 2015), es de esperar que muchos de estos cambios observados se atribuyan directamente a su concentración y actividad en los tejidos aéreos.

La posibilidad de lograr altas tasas de crecimiento está asociada, en primera instancia, a la posibilidad de expandir el mayor número de hojas del mayor tamaño posible en el menor tiempo. Las hojas se inician en el meristema apical del tallo a partir de una protuberancia visible que inhibe por dominancia apical la posibilidad de que comience una segunda hoja hasta que el meristema apical no ha crecido lo suficiente como para reducir la dominancia generada por el primer primordio. De esta forma, la fijación de fotoasimilados y su translocación al meristema

apical del tallo genera un mecanismo de retroalimentación positiva que se manifiesta con una reducción del plastocrono, es decir, el tiempo de aparición de dos hojas sucesivas (Skylar & Wu, 2011).

El aumento en el área foliar total (Figuras 5.1A y 5.1E) durante el pos-trasplante en *I. walleriana* cuando se disminuye la restricción radical (aumento del tamaño de la celda o se usa un sistema flotante) o cuando las plántulas se asperjan durante el pos-trasplante con AIA, podría explicarse en parte por un mayor RLA (Figura 5.1B). Estos resultados están de acuerdo con informes anteriores, que incluyen aplicaciones foliares de citocininas sintéticas (BAP) y AIA en las plantas de maceta ornamentales *Epipremnum aureum* (Di Benedetto et al., 2015b; 2018) e *Impatiens* "Nueva Guinea" (Molinari et al., 2018, 2019).

Los estudios de las últimas dos décadas han demostrado que las auxinas juegan un papel crucial en la iniciación de la hoja (Xiong y Jiao, 2019). El hecho de que las auxinas promuevan RLA podría deberse a un efecto directo de estas sobre el meristema apical del tallo (Traas, 2019; Persinová & Vernoux, 2021), o a un efecto indirecto, a través de la promoción de la ramificación de la raíz (Irina et al., 2018) y por lo tanto, de citocininas. En general, el crecimiento y desarrollo de las raíces está regulado por la relación entre auxinas y citocininas endógenas (Jing & Strader, 2019).

Una vez que se ha iniciado un primordio foliar en el meristema apical del tallo, su tamaño final es el resultado de las características genéticas de la especie, el entorno en el que crece y el equilibrio hormonal endógeno que incluye tanto las citocininas como las auxinas. La mayor área foliar total de algunos tratamientos de la Figura 5.1A se logra adicionalmente con un RLAER más alto (Figuras 5.1C y 5.1F), lo que en paralelo implica un tamaño de hoja individual más grande (datos no mostrados). Generalmente se obtiene una respuesta similar, pero de menor impacto, en el pos-trasplante cuando se aplican citocininas sintéticas (Di Benedetto et al., 2020a, b). Por otro lado, estos resultados son consistentes con el conocido papel de las auxinas en la promoción de la expansión celular (Du et al., 2020).

Otra consecuencia de una reducción en la restricción de raíces sobre la biomasa de la hoja es un aumento en el espesor de la hoja (estimado a través de SLA sobre una base de peso fresco) (Figura 5.1D), que normalmente se asocia con una tasa fotosintética más alta. Publicaciones previas en *Epipremnum aureum* (Di Benedetto et al., 2015a, b, 2018) e *Impatiens*

“Nueva Guinea” (Molinari et al., 2020) han mostrado mayor espesor de las hojas, cuando las plantas fueron asperjadas con BAP o AIA, que es una consecuencia de un aumento en la proporción de espacios intercelulares. Los mutantes del FACTOR DE RESPUESTA AUXINA 4 en tomate dieron como resultado una reducción significativa del grosor de la hoja (Bouzroud et al., 2019). Estos cambios anatómicos determinan una disminución de la resistencia a la difusión de CO₂ desde la cámara sub-estomática hacia el sitio de carboxilación (Gandolfo et al., 2014; Carnelos et al., 2022).

Las diferencias de peso fresco total entre tratamientos en el pos-trasplante fueron similares a las encontradas en el área foliar, es decir, los mayores valores estuvieron asociados con el número de celdas por bandeja multicelda en el pre-trasplante, el sistema de propagación y el asperjado con AIA (Figura 5.2A). Este no es un resultado inesperado ya que el peso seco de las hojas es uno de los componentes más importantes del peso seco total, aunque su participación relativa varía entre los diferentes tratamientos. El uso de bandejas multicelda con menor número de celdas, un sistema flotante en relación con el sistema de propagación tradicional y el asperjado con AIA en dosis única en el pre-trasplante aumentó el peso seco de todos los órganos de la planta (raíces, tallos, hojas y flores) en el pos-trasplante (Figuras 5.2B, C, D y E).

Los cambios en el peso seco descritos anteriormente pueden explicarse por una mayor RGR (Figura 5.3A). Al desagregar RGR en el componente fisiológico NAR (Figura 5.3B) y el componente morfológico LAR (Figura 5.3C) se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Por un lado, el aumento de RGR de los controles en el sistema tradicional se relacionó con el aumento de NAR y LAR. Sin embargo, en los controles del sistema flotante, NAR aumentó más que LAR. Finalmente, las respuestas de RGR-AIA se relacionaron principalmente con los cambios de NAR en ambos sistemas de propagación.

Una alta acumulación de biomasa en cualquier ambiente requiere, además de una alta capacidad de captación de luz, una alta capacidad fotosintética (Demmig-Adams et al., 2018). Las auxinas endógenas no solo estimulan la captación de radiación fotosintéticamente activa, sino también específicamente en el proceso de carboxilación de CO₂ (Küpers et al., 2020; Mir et al., 2020). De acuerdo con estos resultados, informes previos indican que las auxinas participan activamente en el proceso fotosintético directamente (Mir et al., 2020), así como a través de un aumento en el desarrollo del sistema vascular de la planta (Burian et al., 2021).

Una última aproximación disponible para entender las diferencias entre tratamientos en este trabajo estaría relacionada con los cambios en la partición de los fotoasimilados fijados por las plantas. La Figura 5.4A muestra que a medida que disminuye el número de celdas por bandeja, los fotoasimilados se particionaron preferentemente hacia la parte aérea. El uso de un sistema flotante y una sola aspersión de AIA durante la etapa de pre-trasplante, aumentó esta partición durante el pos-trasplante. Cuando se analizó la partición entre hojas y tallos, se encontró que los fotoasimilados se particionaron preferentemente a los tallos (Figura 5.4B), lo que explicaría parte del aumento de RLA (Figura 5.1B). Esta es una respuesta común encontrada en experimentos donde las plantas sufrían una restricción radical relacionada con el número de celdas en la bandeja multicelda y otras situaciones de estrés abiótico durante la propagación-cultivo (Di Benedetto y Pagani, 2013; Pagani et al., 2013; Coro et al., 2014; De Lojo et al., 2014, 2017, 2019a, 2019b; Di Benedetto et al., 2015, 2018; Di Matteo et al., 2015; Pagani et al., 2015; Gandolfo et al., 2016; Sala et al., 2016; Williams et al., 2016; Hakim et al., 2017; Rattin et al., 2017a, b; Geraci et al., 2018; Piotti et al., 2018; Riverti et al., 2018; Lozano Miglioli et al., 2019; Molinari et al., 2019; Salinas et al., 2019; Campolongo et al., 2020; Chertok et al., 2020; Lozano Miglioli et al., 2020; Pagani et al., 2020; Carnelos et al., 2021; Leytur et al., 2021; Pagani et al., 2021; Hakim et al., 2022).

Como resultado de estos cambios en la partición de foto-asimilados, la relación raíces/parte aérea en la etapa de pos-trasplante fue mayor en las plantas provenientes de bandejas con 512 plántulas del sistema de propagación tradicional y disminuyó significativamente cuando disminuyó el número de celdas por bandeja, se utilizó un sistema flotante y se asperjó con AIA (Figura 5.4C).

Aunque una parte importante de la mayor acumulación de peso seco en *I. walleriana* puede explicarse por un aumento en la tasa fotosintética, diferentes estimadores involucrados en la partición de foto-asimilados (LAR, alometrías raíces/parte aérea; alometrías de hojas/tallos) también determinan cambios positivos frente a una reducción en la restricción radical por celdas de mayor volumen, el uso de un sistema flotante y el asperjado con AIA exógeno.

La formación de los haces vasculares responsables de la translocación de los fotoasimilados se inicia mediante un movimiento direccional de las auxinas desde la fuente hasta

el destino, que gradualmente se restringe (o canaliza) en filas estrechas de células (Burian et al., 2021). Un cambio en la relación fuente-destino involucra estímulos externos (por ejemplo, una restricción radical) e internos (cambios en la concentración de hormonas) (Aluko et al., 2021). Sin embargo, se ha prestado poca atención a la influencia de las auxinas en la restricción radical fuera de nuestro grupo de investigación (Di Benedetto et al., 2015b, 2018; Molinari et al., 2020).

Cuando se comparan los resultados basados en la hipótesis de que a mayor capacidad de crecimiento del sistema radical disminuye el estrés abiótico generado en la planta, se encontró una relación directa entre NAR (Figura 5.5A), LAR (Figura 5.5B) y RGR. Por otro lado, también se encontró una relación inversa entre SLA en base de peso fresco (como estimador del grosor de la hoja) y NAR. Estas correlaciones son similares a las encontradas en otros experimentos con *I. walleriana* (Gandolfo et al., 2014; De Lojo et al., 2019b, 2021; Hakim et al., 2022) y diferentes especies ornamentales tales como, *Epipremnum aureum* (Di Benedetto et al., 2015a), *I. hawkeri* (Molinari et al., 2018, 2019), *Zantedeschia aethiopica* (Piotti et al., 2018), *Mammillaria elongata* subsp. *echinaria* (Lozano Miglioli et al., 2019), *Ficus benjamina* (Di Benedetto et al., 2020c), *Asplenium nidus avis* (Pagani et al., 2020) y hortícolas tales como espinaca (Di Matteo et al., 2015; Gerasi et al., 2018) y lechuga (Salinas et al., 2019; Campolongo et al., 2020; Chertok et al., 2020; Carnelos et al., 2022).

En mis experimentos también se cuantificó un atributo estético de la calidad de *I. walleriana*, como es la aparición de flores. Los resultados mostraron que el peso seco de la flor estaba directamente relacionado con RGR (Figura 5.5D), NAR (Figura 5.5E) y RLA (Figura 5.5F), lo que puede explicarse en función de las respuestas observadas en la morfología y fisiología de las plantas.

En plantas donde la floración está asociada principalmente a la acumulación de reservas, como *Impatiens walleriana*, es razonable pensar que una mayor RGR asociada a una mayor NAR aumentaría la acumulación de biomasa en las flores (De Lojo et al., 2021). Por otro lado, las flores de *I. walleriana* aparecen en la axila de cada hoja individual, por lo tanto, un mayor número de hojas iniciadas (Figura 5.1B) es razonable asociarlo con un mayor número de flores (datos no mostrados) o mayor peso total de flores (Figura 5.5F).

Los cambios en la acumulación de biomasa y los procesos involucrados son consistentes con la interacción entre auxinas y citocininas en el control del crecimiento. Estos resultados sugieren a las auxinas como una herramienta tecnológica para superar la restricción radical generada por la disminución del tamaño de la celda en las bandejas multicelda. La ventaja comercial adicional de esta alternativa es que la auxina sintética de alta calidad, como AIA, es mucho más económica que las citocininas sintéticas de alta calidad (BAP).

CAPÍTULO 6 - CONTRASTE DE HIPÓTESIS Y CONCLUSIONES

Ha1. El uso de bandejas con diferente número de celdas establece una limitante al crecimiento radical. La reducción del crecimiento radical en los sistemas de conducción tradicionales puede atemperarse o eliminarse con el uso de ‘bandejas flotantes’ a partir de menores restricciones físicas para la ramificación del sistema radical. No se rechaza (Capítulo 3).

Ha2. La producción de biomasa aérea pos-trasplante está determinada por el crecimiento del sistema radical pre-trasplante. No se rechaza (Capítulo 5).

Hb. El asperjado pre-trasplante con AIA sería capaz de superar el efecto de una restricción radical en la bandeja multicelda, aunque tendría poco impacto positivo (y eventualmente negativo) sobre las conducidas en sistemas de ‘bandejas flotantes’. Se rechaza parcialmente (Capítulos 4 y 5).

Hc. Una disminución de las concentraciones endógenas de auxinas en las raíces por el uso de inhibidores del transporte de dicha hormona reduciría la acumulación de biomasa total. No se rechaza (Capítulo 5).

Hd. La restricción al crecimiento radical afecta la expansión del área foliar fotosintetizante a través del tamaño de cada hoja individual y de la tasa de aparición de hojas. La acumulación de peso fresco-seco se ve afectada por una reducción de la tasa fotosintética y por una mayor partición de los fotoasimilados producidos hacia el sistema radical. No se rechaza (Capítulos 3, 4 y 5).

- Aunque experiencias previas demostraron la eficiencia del sistema flotante para diferentes especies bajo cultivos intensivos, existen pocas comparaciones entre este y el sistema tradicional. Incluso en estos, el enfoque metodológico solo contempla cambios en el número de hojas o peso fresco-seco al momento del trasplante. En contraste, la metodología de análisis de crecimiento utilizada en mis experimentos valida los resultados positivos a favor del uso de un sistema flotante pero también muestra los mecanismos fisiológicos involucrados tales como expansión de área foliar

fotosintetizante, capacidad para producir y acumular fotoasimilados y partición de fotoasimilados a favor de la parte aérea de la planta.

- A pesar que la restricción radical asociada con el número de celdas en una bandeja multicelda es crítica durante la propagación de plantas ornamentales, no es un estrés abiótico que generalmente se aborda en la literatura. Los experimentos realizados en nuestro grupo de investigación han aportado información importante sobre la participación de hormonas endógenas y el efecto del asperjado con reguladores hormonales sintéticos. Los resultados de este proyecto mostraron además la participación de auxinas endógenas y el potencial uso de auxinas sintéticas para superar esta restricción radical inicial.
- Los cambios en la acumulación de biomasa y los procesos involucrados son consistentes con la interacción entre auxinas y citocininas en el control del crecimiento. Los efectos pre- y pos-trasplante del asperjado con AIA sobre la generación de rendimiento de *Impatiens walleriana* sugieren a las auxinas sintéticas como una herramienta tecnológica para superar la restricción radical generada por el incremento en el número de celdas por bandeja durante la propagación. La ventaja comercial adicional de esta alternativa es que la auxina sintética de alta calidad, como la AIA, es mucho más económica que las citocininas sintéticas de alta calidad (BAP).

Ofrecer un producto de calidad desde el punto de vista estético y funcional es fundamental para el éxito comercial en una producción ornamental de plantas en maceta, el sistema flotante ha demostrado producir aumentos de materia seca y fresca total superiores al sistema tradicional durante la propagación y al momento de la venta.

El uso de auxinas generó reiteradamente resultados superiores en el sistema tradicional por lo cual sería útil el tratamiento con AIA como alternativa a otros reguladores de crecimiento (BAP) en este sistema.

TIBA y NPA en el sistema flotante produjeron resultados que no permitirían afirmar que son los inhibidores más adecuados para simular una deficiencia endógena de esta hormona.

Si bien se ha logrado la caracterización desde el punto de vista fisiológico de situaciones de mayor restricción al crecimiento de las raíces (bandejas con mayor número de celdas, propagación a través del sistema típico) o menor grado de restricción (bandejas con mayor número de celdas, propagación a través de un sistema flotante, aplicación de AIA) aún no se ha relacionado de manera objetiva el estrés abiótico causado por el volumen reducido de celda en la bandeja multicelda, con intermediarios de la vía de las citocininas o de las auxinas o indicadores de estrés oxidativo tales como las Especies reactivas del oxígeno (ROS por sus iniciales en inglés) o enzimas vinculadas a su síntesis-degradación, siendo esto una cuestión a dilucidar.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ABD-ELMONIEM, E.M.; ABDRABBO, M.A.; FARAG, A.A.; MEDANY, M.A. (2006): Hydroponics for food production: comparison of open and closed systems on yield and consumption of water and nutrient. En: 2nd International Conference on Water Resources and Arid Environments. Riyadh, Saudi Arabia: King Saud University (pp. 1-8).
- AKOUMIANAKI-IOANNIDOU, A.; RASOULI, M.; PODAROPOULOU, L.; KARAPANOS, I.; BILALIS, D. (2015): Effects of cultivation system and fertilization on seedling production of *Ocimum basilicum* L. and *Mentha spicata* L. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 43(1): 131-137.
- AKTSOGLU, D.C.; KASAMPALIS, D.S.; SARROU, E.; TSOUVALTZIS, P.; CHATZOPOULOU, P.; MARTENS, S; SIOMOS, A. S. (2021): Protein hydrolysates supplement in the nutrient solution of soilless grown fresh peppermint and spearmint as a tool for improving product quality. *Agronomy*, 11: 317.
- ALUKO, O.O.; LI, C.; WANG, Q.; LIU, H. (2021): Sucrose utilization for improved crop yields: A review article. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9): 1-29.
- ALVARADO-CAMARILLO, D.; VALDEZ-AGUILAR, L.A.; GONZÁLEZ-FUENTES, J.A.; RASCÓN-ALVARADO, E.; PEÑA-RAMOS, F.M. (2020): Response of hydroponic lettuce to aeration, nitrate and potassium in the nutrient solution. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science*, 70(4): 341-348.
- ANVER, M.A.M.S.; BANDARA, D.C.; PADMATHILAKE, K.R.E. (2005): Comparison of the carbon partitioning and photosynthetic efficiency of lettuce (*Lactuca sativa* L.) under hydroponics and soil cultivation. *Tropical Agriculture Research*, 17: 194-202.
- BANTIS, F.; KAPONAS, C.; CHARALAMBOUS, C.; KOUKOUNARAS, A. (2021): Strategic successive harvesting of rocket and spinach baby leaves enhanced their quality and production efficiency. *Agriculture*, 11(5): 465.
- BARBARO, L.; KARLANIAN, M.; MORISIGUE, D. (2009): El sistema flotante como alternativa para la producción de plantines de Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* L.). *Agriscientia*, 26: 63-69.
- BARBARO, L.A.; KARLANIAN, M.; MATA, D.A. (2017): Use of copper hydroxide in the cultivation of lisianthus seedlings (*Eustoma grandiflorum* L.) under floating system. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, 49: 61-68

- BARBARO, L.A.; KARLANIÁN, M.A.; LEGUIZAMÓN, D.S. (2015): Effect of the use of hydrogel in a substrate formulated with *Sphagnum* peat and other with subtropical peat to produce seedlings of *Impatiens walleriana*. *Agriscientia*, 32(2): 123-129.
- BARTOLI, C.G.; CASALONGUÉ, C.A.; SIMONTACCHI, M.; MARQUEZ-GARCIA, B.; FOYER, C.H. (2013): Interactions between hormone and redox signalling pathways in the control of growth and cross tolerance to stress. *Environmental and Experimental Botany*, 94: 73-88.
- BASU, D.; HASWELL, E.S. (2017): Plant mechanosensitive ion channels: an ocean of possibilities. *Current Opinion in Plant Biology*, 40: 43-48.
- BIELACH, A.; HRTYAN, M.; TOGNETTI, V.B. (2017): Plants under stress: Involvement of auxin and cytokinin. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7): 1427.
- BLOK, C.; VAN OS, E. A. (2016): Deep flow technique (DFT) and nutrient film technique (NFT) for the cultivation of lettuce. Recuperado de <https://edepot.wur.nl/403804>
- BOEGER, M.R.; FONSECA PAULINELLI GARCIA, S.; SOFFIATTI, P. (2009): Leaf architecture of *Impatiens walleriana* Hook. f. (Balsaminaceae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 31(1): 29-34.
- BOUZROUD, S.; BARBOSA, M.A.M.; GASPARINI, K.; FAHR, M.; BENDAOU, N.; BOUZAYEN, M.; ZSÖGÖN, A.; SMOUNI, A.; ZOUINE, M. (2019): Loss of AUXIN RESPONSE FACTOR 4 function alters plant growth, stomatal functions and improves tomato tolerance to salinity and water deficit. *BioRxiv*, 756387.
- BRENNER, W.G.; SCHMÜLLING, T. (2015): Summarizing and exploring data of a decade of cytokinin-related transcriptomics. *Frontiers in Plant Science*, 6:29
- BURIAN, A.; RACZYŃSKA-SZAJGIN, M.; PAŁUBICKI, W. (2021): Shaping leaf vein pattern by auxin and mechanical feedback. *Journal of Experimental Botany*, 72: 964-967.
- CAMPOLONGO, L; D. CARNELOS; J. LOZANO-MIGLIOLI; P. FUJINUMA; E. GIARDINA; A. DI BENEDETTO (2020): Physiological mechanism involved in the response to four lettuce varieties to a pre-transplant root restriction and a 6, benzyl amino purine (BAP) spray. *Asian Journal of Agricultural and Horticultural Research*, 5(4): 27-43.
- CARNELOS, D.; LOZANO MIGLIOLI, J.; GIARDINA, E.; TOGNETTI, J.; DI BENEDETTO, A.H (2022): Cytokinin action revisited: leaf anatomical changes play a key role in 6-benzylaminopurin-driven growth promotion in pot-grown lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 28(2), 109-133.

- CARNELOS, D.; LOZANO MIGLIOLI, J.; FUJINUMA, P.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2021): Root-shoot growth and time to transplant for different lettuce genotypes during nursery. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNCuyo)*, 53(1): 89-97.
- CARRASCO, G.; MARTÍNEZ, A.C., MÁRQUEZ, O., OSORIODEPT, D.; URRESTARAZU, M.; SALAS, M.C. (2003): Vegetable seedlings grown in a float system. *Acta Horticulturae.*, 614: 241-245.
- CHERTOK, J; D. CARNELOS; J. LOZANO-MIGLIOLI; P. FUJINUMA; E. GIARDINA; A. DI BENEDETTO (2020): Plug cell volume, main temperature and a 6, benzyl amino purine (BAP) spray on lettuce biomass accumulation during nursery. *Journal of Experimental Agriculture International*, 42(4): 120-135.
- CHFBA. Censo Hortiflorícola de la Provincia de Buenos Aires. (2005): Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires. Recuperado de: <http://www.estadistica.ec.gba.gov.ar/dpe/Estadistica/chfba/censohort.htm>
- CHO, W.J.; KIM, H.J.; JUNG, D.H.; KIM, D.W.; AHN, T.I.; SON, J.E. (2018): On-site ion monitoring system for precision hydroponic nutrient management. *Computers and Electronics in Agriculture*, 146: 51–58.
- CHRISTENHUSZ, M. J. M. (2009): Balsaminae. En: Davidse, G., M. Sousa and S. Knapp (Eds.). *Flora Mesoamericana*, 3(2). Universidad Nacional Autónoma de México. Cd. Mx., México
- CHRISTOU, P.; BARTON, K.A. (1989): Cytokinin antagonist activity of substituted phenethylamines in plant cell culture. *Plant Physiology*, 89(2): 564-568.
- CHUNG, Y.; ZHU, Y.; WU, M.F.; SIMONINI, S.; KUHN, A.; ARMENTA-MEDINA, A.; JIN, R.; ØSTERGAARD, L.; GILLMOR, C.S.; WAGNER, D. (2019): Auxin response factors promote organogenesis by chromatin-mediated repression of the pluripotency gene SHOOTMERISTEMLESS. *Nature Communications*, 10(1): 866.
- CORO, M.; A. ARAKI; J. RATTIN; P. MIRAVÉ; A. DI BENEDETTO, A.H. (2014): Lettuce and celery responses to both BAP and PBZ related to the plug cell volume. *American Journal of Experimental Agriculture*, 4(10): 1103-1119.
- CORTLEVEN, A.; LEUENDORF, J.E.; FRANK, M.; PEZZETTA, D.; BOLT, S.; SCHMÜLLING, T. (2019): Cytokinin action in response to abiotic and biotic stresses in plants. *Plant Cell and Environment*, 42(3): 998-1018.
- CORTLEVEN, A.; SCHMÜLLING, T. (2015): Regulation of chloroplast development and function by cytokinin. *Journal of Experimental Botany*, 66(16): 4999-5013.

- CRISTOFANO, F.; EL-NAKHEL, C.; PANNICO, A.; GIORDANO, M.; COLLA, G.; ROUPHAEL, Y. (2021): Foliar and Root Applications of vegetal-derived protein hydrolysates differentially enhance the yield and qualitative attributes of two lettuce cultivars grown in floating system. *Agronomy*, 11: 1194.
- CROS, V.; MARTINEZ-SANCHEZ, J.J.; FRANCO, J.A. (2007): Good yields of common purslane with a high fatty acid content can be obtained in a peat-based floating system. *HortTechnology*, 17: 14-20.
- DE LOJO, J., GANDOLFO, E.; GÓMEZ, D.; FEURING, V.; MONTI, S.; GIARDINA, E.; BOSCHI, C.; DI BENEDETTO, A.H. (2017): Root restriction effects on the bedding pot plant *Impatiens walleriana*. *Journal of Experimental Agriculture International*, 15(4): 1-16.
- DE LOJO, J.; DI BENEDETTO, A.H. (2014): Biomass accumulation and leaf shape can be modulated by an exogenous spray of 6-benzylaminopurine in the ornamental foliage plant *Monstera deliciosa* (Liebm). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 89: 136-140.
- DE LOJO, J.; GANDOLFO, E.; BOSCHI, C.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2019a): Pot cell volume, growing media quality and benzyl aminopurine (BAP) spray effects for nursery growth of *Impatiens walleriana*. *International Journal of Plant & Soil Science*, 27(6): 1-13.
- DE LOJO, J.; GANDOLFO, E.; GIARDINA, E.; BOSCHI, C.; DI BENEDETTO, A.H. (2019b): Growing media quality and plug cell volume would be interactive abiotic stresses for *Impatiens walleriana* pot yield. *Asian Journal of Agricultural and Horticultural Research*, 4(1): 1-14.
- DE LOJO, J.M.; GANDOLFO, E.; FEURING, V.; GIARDINA, E.B., BOSCHI, C.L.; DI BENEDETTO, A.H. (2021): Garden post-transplant effects of pre-transplant plug cell volume and growing medium quality (as abiotic stresses) in *Impatiens walleriana*. *Ornamental Horticulture*, 27: 320-333.
- DE MELO, A.R.; DE SOUSA, J.F.F.; CONCEIÇÃO, C.N.; OLIVEIRA, M.R.A. (2020): Conditioning of seedlings of peppers (*Capsicum annum* L.), influenced by the hydroponic system "floating". *Irriga*, 25: 764-770.
- DELLO IOIO, R.; LINHARES, F.S.; SCACCHI, E.; CASAMITJANA-MARTINEZ, E.; HEIDSTRA, R.; COSTANTINO, P.; SABATINI, S. (2007): Cytokinins determine Arabidopsis root-meristem size by controlling cell differentiation. *Current Biology*, 17(8): 678-82.

- DELLO IOIO, R.; NAKAMURA, K.; MOUBAYIDIN, L.; PERILLI, S.; TANIGUCHI, M.; MORITA, M.T.; AOYAMA, T.; COSTANTINO, P.; SABATINI, S. (2008): A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem. *Science*, 322(5906): 1380-1384.
- DELUCCHI, G. C. (2013): Producción de plantines florales de petunia (*Petunia híbrida*) y clavelina (*Dianthus chinensis*) en sistema flotante. Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Recuperado de <https://repositorio.uca.edu.ar/handle/123456789/423>
- DEMMIG-ADAMS, B.; STEWART, J.J.; BAKER, C.R.; ADAMS, W.W. (2018): Optimization of photosynthetic productivity in contrasting environments by regulons controlling plant form and function. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3): 872.
- DEMURA, T.; YE, Z.H. (2010): Regulation of plant biomass production. *Current Opinion in Plant Biology*, v.13, 298-303.
- DHILLON, B.S.; SHARMA, P.K.; SARDANA, V. (2018): Influence of foliar application of boron and TIBA on photosynthetic parameters vis-a-vis productivity of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under variable sowing dates. *Journal of Agrometeorology*, 20: 16-21.
- DI BENEDETTO, A.H. (2007): Alternative substrates for potted ornamental plants based on Argentinean peat and Argentinean river waste: A review. *Floriculture and Plant Ornamental Biotechnology*, 1: 90-101.
- DI BENEDETTO, A.H. (2011): Root restriction and post-transplant effects for bedding pot plants. *Ornamental Plants: Types, Cultivation and Nutrition*, 47-79.
- DI BENEDETTO, A.H.; KLASMAN, R. (2004): The effect of plug cell volume on the post-transplant growth for *Impatiens walleriana* pot plant. *European Journal of Horticultural Science*, 69(2): 82-86.
- DI BENEDETTO, A.; KLASMAN, R. (2007): River waste as a potentially amendment for low quality *Sphagnum* peat. *European Journal of Horticultural Science*, 72: 260-261.
- DI BENEDETTO, A.; PAGANI, A. (2013): Dry weight accumulation in the *Impatiens walleriana* pot plant in responses to different pre-transplant plug cell volume. *European Journal of Horticultural Science*, 78(2): 76-85.
- DI BENEDETTO, A.; MOLINARI, J.; RATTIN, J. (2006): The effect of transplant in sweet maize (*Zea mays* L.). II. Container root restriction. *International Journal of Agricultural Research*, 1: 555-563.

- DI BENEDETTO, A.H.; TOGNETTI, J. (2016): Técnicas de análisis de crecimiento de plantas: su aplicación a cultivos intensivos. *RIA*, 42: 258-282.
- DI BENEDETTO, A.H.; GALMARINI, C.; TOGNETTI, J. (2013): Changes in leaf size and in the rate of leaf production contribute to cytokinin-mediated growth promotion in *Epipremnum aureum* L. cuttings. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 88: 179-186.
- DI BENEDETTO, A.H.; GALMARINI, C.; TOGNETTI, J. (2015a): Exogenous cytokinin promotes *Epipremnum aureum* L. growth through enhanced dry weight assimilation rather than through changes in partitioning. *American Journal of Experimental Agriculture*, 5: 419-434.
- DI BENEDETTO, A.H.; GALMARINI, C.; TOGNETTI, J. (2015b): Effects of combined or single exogenous auxin and/or cytokinin applications on growth and leaf area development in *Epipremnum aureum*. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 90: 643-654.
- DI BENEDETTO, A.H.; GALMARINI, C.; TOGNETTI, J. (2018): New insight into how thigmomorphogenesis affects *Epipremnum aureum* plant development. *Horticultura Brasileira*, 36: 330-340.
- DI BENEDETTO, A.; GIARDINA, E.; DE LOJO, J.; GANDOLFO, E.; HAKIM, G. (2020a): Exogenous benzyl amino purine (BAP) applications for the ornamental pot industry. (pp 1-56). En: KORTESMÄKI, S. *Cytokinins: Biosynthesis and Uses*. Nova Science Publishers, New York.
- DI BENEDETTO, A.; RATTIN, J.; CARNELOS, D.; LOZANO-MIGLIOLI, J.; GIARDINA, E.; ARAKI, A.; CORO, M.; PICO-ESTRADA, O.; TERUEL, J.; DI MATTEO, J.; GERASI, J.; BARRERA, L.; ALONSO, E.; GRIGOLI, L. (2020b): Technological uses of exogenous cytokinins in vegetables. (pp 107-155). En: KORTESMÄKI, S. *Cytokinins: Biosynthesis and Uses*. New York: Nova Science Publishers.
- DI BENEDETTO, A.H.; GALMARINI, C.R.; TOGNETTI, J.A. (2020c). Differential growth response of green and variegated *Ficus benjamina* to exogenous cytokinin and shade. *Ornamental Horticulture*, 26(2): 259-276.
- DI MATTEO, J.; RATTIN, J.; DI BENEDETTO, A.H. (2015): Increase of spinach growth through the use of larger plug cell volume and an exogenous BAP spray. *American Journal of Experimental Agriculture*, 6(6): 372-383.
- DINTCHEVA, T.I. (2017): Quality of tomato seedlings grown in modified floating system. *International Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 4: 276-281.

- DU, M.; SPALDING, E.P.; GRAY, W.M. (2020): Rapid auxin-mediated cell expansion. *Annual review of Plant Biology*, 71: 379-402.
- DURBAK, A.; YAO, H.; MC STEEN, P. (2012): Hormone signaling in plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, 15: 92-96.
- ELEGADO, A.N.T. (2022): Novel Approaches in Hydroponic Greenhouse Monitoring: A Review of Related Literature. Doctoral dissertation, Saint Louis University.
- EVANS, J.R.; CLARKE, V.C. (2019): The nitrogen cost of photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*, 70(1): 7-15.
- FUKUI, K.; HAYASHI, K.I. (2018): Manipulation and sensing of auxin metabolism, transport and signaling. *Plant and Cell Physiology*, 59: 1500-1510.
- GANDOLFO, E.; DE LOJO, J.; GÓMEZ, D.; PAGANI, A.; MOLINARI, J.; DI BENEDETTO, A.H. (2014): Anatomical changes involved in the response of *Impatiens walleriana* to different pre-transplant plug cell volumes and BAP sprays. *European Journal of Horticultural Science*, 79: 226-232.
- GANDOLFO, E.; HAKIM, G.; GERACI, J.; FEURING, V.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2016): Responses of pansy (*Viola wittrockiana* Gams.) to the quality of the growing media. *American Journal of Experimental Agriculture*, 12: 1-10.
- GEORGE, E.F.; HALL, M.A.; KLERK, G.J. DE. (2008a): Plant growth regulators I: Introduction; Auxins, their analogues and inhibitors. *Plant Propagation by Tissue Culture* 3rd Edition, 1: 175–204.
- GEORGE, E.F.; HALL, M.A.; KLERK, G.J. DE. (2008b): Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonists. *Plant Propagation by Tissue Culture* 3rd Edition, 1: 205-226.
- GERACI, J.; DI MATTEO, J.; FEURING, V.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2018): Exogenous BAP spray applications against to abiotic stress related by root restrictions in spinach. *Journal of Experimental Agriculture International*, 25(6): 1-17.
- GIMÉNEZ, A.; FERNÁNDEZ, J.A.; PASCUAL, J.A.; ROS, M.; LÓPEZ-SERRANO, M., EGEEA-GILABERT, C. (2019): An agroindustrial compost as alternative to peat for production of baby leaf red lettuce in a floating system. *Scientia Horticulturae*, 246: 907-915.
- GIMÉNEZ, A.; FERNÁNDEZ, J.A.; PASCUAL, J.A.; ROS, M.; SAEZ-TOVAR, J.; MARTINEZ-SABATER, E.; GRUDA, N.S.; EGEEA-GILABERT, C. (2020): Promising composts as growing media for the production of baby leaf lettuce in a floating system. *Agronomy*, 10(10): 1540.

- GIULINI, A.; WANG, J.; JACKSON, D. (2004): Control of phyllotaxy by the cytokinin inducible response regulator homologue ABPHYL1. *Nature*, 430: 1031–1034.
- GLANZ-IDAN, N.; TARKOWSKI, P.; TUREČKOVÁ, V.; WOLF, S. (2020): Root–shoot communication in tomato plants: cytokinin as a signal molecule modulating leaf photosynthetic activity. *Journal of Experimental Botany*, 71(1): 247–257.
- GOMES, G.L.B.; SCORTECCI, K.C. (2021): Auxin and its role in plant development: structure, signalling, regulation and response mechanisms. *Plant Biology*, 23(6): 894–904.
- GONIN, M.; BERGOUGNOUX, V.; NGUYEN, T.D.; GANTET, P.; CHAMPION, A. (2019): What makes adventitious roots? *Plants*, 8(7): 240.
- GUAN, C.; WU, B.; YU, T.; WANG, Q.; KROGAN, N.T.; LIU, X.; JIAO, Y. (2017): Spatial auxin signaling controls leaf flattening in *Arabidopsis*. *Current Biology*, 27: 2940-2950.
- GULL, A.; LONE, A. A.; WANI, N. U. I. (2019): Biotic and abiotic stresses in plants. *Abiotic and Biotic Stress in Plants*. Bosco de Oliveira, A., (Ed), Intech Open, Londres, UK. (1-19).
- HAKIM, G.; E. GANDOLFO; M. SALINAS; E. GIARDINA; A DI BENEDETTO (2022): Amino acid solutions on the growth of the ornamental plant *Impatiens walleriana* grown under root restriction stress. *Ornamental Horticulture*, 28(2): 150-160.
- HAKIM, G.; GANDOLFO, E.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2017): The effect of the pre-transplant pot media quality on pansy garden performance. *International Journal of Plant and Soil Science*, 19: 1-12.
- HANAA, H.; SAFAA, A. (2019): Foliar application of IAA at different growth stages and their influenced on growth and productivity of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Physics: Conference Series*, 1294(9).
- HARTIG, K.; BECK, E. (2006): Crosstalk between auxin, cytokinins, and sugars in the plant cell cycle. *Plant Biology*, 8: 389-396.
- HAY, A.; TSIANTIS, M. (2010): KNOX genes: versatile regulators of plant development and diversity. *Development*, 137(19):3153-3165.
- HEISLER, M.G.; BYRNE, M.E. (2020): Progress in understanding the role of auxin in lateral organ development in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 53: 73-79.
- HUSSAIN, S.; NANDA, S.; ZHANG, J.; REHMANI, M.I.A.; SULEMAN, M.; LI, G.; HOU, H. (2021): Auxin and cytokinin interplay during leaf morphogenesis and phyllotaxy. *Plants*, 10: 1732
- ILINA, E.L.; KIRYUSHKIN, A.S.; SEMENOVA, V.A.; DEMCHENKO, N.P.; PAWLOWSKI, K.; DEMCHENKO, K.N. (2018): Lateral root initiation and formation

- within the parental root meristem of *Cucurbita pepo*: is auxin a key player?. *Annals of Botany*, 122: 873-888.
- IUCN. International Union for Conservation of Nature. (2020): Possibly extinct in the wild species. Recuperado de https://nc.iucnredlist.org/redlist/content/attachment_files/2020_1_RL_Stats_Table_9.pdf
- JAKŠE, M., HACIN, J.; KACJAN-MARŠIĆ, N. (2013): Production of rocket (*Eruca sativa* Mill.) on plug trays and on a floating system in relation to reduced nitrate content. *Acta Agriculturae Slovenica*, 1(101): 59-68.
- JAN, S.; RASHID, Z.; AHNGAR, T. A.; IQBAL, S.; NAIKOO, M. A., MAJEED, S.; NAZIR, I. (2020): Hydroponics-A review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(8): 1779-1787.
- JANSSENS, S.B.; KNOX, E.B.; HUYSMANS, S.; SMETS, E.F.; MERCKX, V.S. (2009): Rapid radiation of *Impatiens* (Balsaminaceae) during Pliocene and Pleistocene: result of a global climate change. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52: 806-824.
- JING, H; STRADER, L.C. (2019): Interplay of auxin and cytokinin in lateral root development. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3): 486.
- JONES Jr, J.B. (2014): *Complete Guide for Growing Plants Hydroponically*. CRC Press. NY.
- JONES, B.; GUNNERÅS, S.A.; PETERSSON, S.V. (2010): Cytokinin regulation of auxin synthesis in *Arabidopsis* involves a homeostatic feedback loop regulated via auxin and cytokinin signal transduction. *Plant Cell*, 22(9): 2956-2969.
- KABRANOVA, R.; ARSOV, Z.; DIMOV, Z.; SPIRKOVSKA, M. (2014): Impact of float tray technology on quality of oriental tobacco seedling. 49th Croatian & 9th International symposium on Agriculture, 362-366.
- KANATAS, P. (2020): Float system and crucial points of the method for seedling production and crop cultivation with or without organic fertilization. *Agronomy Research*, 18: 137-147.
- KARNOUITSOS, P.; KARAGIOVANIDIS, M.; BANTIS, F.; CHATZISTATHIS, T.; KOUKOUNARAS, A.; NTINAS, G.K. (2021): Controlled root-zone temperature effect on baby leaf vegetables yield and quality in a floating system under mild and extreme weather conditions. *Journal of Science and Food Agriculture*, 101: 3933-3941.
- KHALIL, S.K.; BASIT, A.; ULLAH, I.; SAJID, M.; SHAH, S.T. (2021): Effect of benzyl amino purine (BAP) and its time of application on the dwarfism and flower production of cut carnation (*Dianthus caryophyllus*). *Fresenius Environmental Bulletin*, 30(9): 10474-10481.

- KHAN, F.A. (2018): A review a hydroponic greenhouse cultivation for sustainable agriculture. *International Journal of Agricultural Environment Food Science*, 2(2): 59-66.
- KHATRI, P.; RANA, J.S.; SINDHU, A.; JAMDAGNI, P. (2019): Effect of additives on enhanced in-vitro shoot multiplication and their functional group identification of *Chlorophytum borivillianum* Sant. Et Fernand. *SN Applied Sciences*, 1(9): 1-10.
- KOLB, E.; LEGUÉ, V.; BOGEAT-TRIBOULOT, M.B. (2017): Physical root-soil interactions. *Physics Biology*, 14(6): 065004.
- KOTOV, A.A.; KOTOVA, L.M. (2015): Role of acropetal water transport in regulation of cytokinin levels in stems of pea seedlings. *Russian Journal of Plant Physiology*, 62: 390-400.
- KRATKY, B.A. (2004): A suspended pot, non-circulating hydroponic method. *Acta Horticulturae*, 648: 83-89.
- KU, Y.S.; SINTAHA, M.; CHEUNG, M.Y.; LAM, H.M. (2018): Plant hormone signaling crosstalks between biotic and abiotic stress responses. *International Journal of Molecular Science*, 19(10): 3206.
- KÜPERS, J.J.; OSKAM, L.; PIERIK, R. (2020): Photoreceptors regulate plant developmental plasticity through auxin. *Plants*, 9(8): 940.
- KUREPA, J.; SHULL, T.E.; SMALLE, J.A. (2019): Antagonistic activity of auxin and cytokinin in shoot and root organs. *Plant Direct*, 3(2): 1-9.
- LAKEHAL, A.; BELLINI, C. (2019): Control of adventitious root formation: insights into synergistic and antagonistic hormonal interactions. *Physiologia Plantarum*, 165(1): 90-100.
- LENNARD, W.A.; LEONARD, B.V. (2006): A comparison of three different hydroponic sub-systems (gravel bed, floating and nutrient film technique) in an aquaponic test system. *Aquaculture International*, 2006, 14(6): 539-550.
- LEYTUR, M.; GANDOLFO, E.; CARNELOS, D.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2021): Biomass accumulation in *Schlumbergera* cactus related to plant competition. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 23: 121-133.
- LI, J., GUAN, Y.; YUAN, L.; HOU, J.; WANG, C.; LIU, F.; YANG, Y.; LU, Z.; CHEN, G.; ZHU, S. (2019): Effects of exogenous IAA in regulating photosynthetic capacity, carbohydrate metabolism and yield of *Zizania latifolia*. *Scientia Horticulturae*, 253: 276-285.

- LI, T.; KANG, X.; LEI, W.; YAO, X.; ZOU, L.; ZHANG, D. (2020): SHY2 as a node in the regulation of root meristem development by auxin, brassinosteroids, and cytokinin. *Journal of Integrative Plant Biology*, 62: 1500-1517.
- LIU, J.; MOORE, S.; CHEN, C.; LINDSEY, K. (2017): Crosstalk complexities between auxin, cytokinin, and ethylene in *Arabidopsis* root development: from experiments to systems modeling, and back again. *Molecular Plant*, 10(12): 1480-1496.
- LOZANO MIGLIOLI, J.; FASCIGLIONE, G.; DI BENEDETTO, A.H. (2020): Cytokinin-regulated physiological parameters affected by an exogenous dopamine spray in Brussels sprout (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*). *Asian Journal of Agricultural and Horticultural Research*, 6(3): 24-36.
- LOZANO MIGLIOLI, J.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2019): Biomass accumulation in an ornamental Cactaceae (*Mammillaria elongata echinaria*) in response to a single benzyl aminopurine (BAP) spray. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 21: 43-56.
- LU, M.Z.; SNYDER, R.; GRANT, J.; TEGEDER, M. (2020): Manipulation of sucrose phloem and embryo loading affects pea leaf metabolism, carbon and nitrogen partitioning to sinks as well as seed storage pools. *The Plant Journal*, 101: 217-236.
- MAHARANA, L., KOUL, D.N. (2011): The emergence of Hydroponics. *Yojana*. 55: 39-40.
- MANDLE, L.; WARREN, D.L.; HOFFMANN, M.H.; PETERSON, A.T.; SCHMITT J.; VON WETTBERG, E.J. (2010): Conclusions about niche expansion in introduced *Impatiens walleriana* populations depend on method of analysis. *PLoS ONE*, 5(12): e15297.
- MAUREL, C.; SIMONNEAU, T.; SUTKA, M. (2010): The significance of roots as hydraulic rheostats. *Journal of Experimental Botany*, 61(12): 3191-3198.
- MCADAM, S.A.; ELÉOUËT, M.P.; BEST, M.; BRODRIBB, T.J.; MURPHY, M.C.; COOK, S.D.; DALMAIS, M.; DIMITRIOU, T.; GÉLINAS-MARION, A.; GILL, W.M.; HEGARTY, M.; HOFER, J.M.I.; MACONOCHIE, M.; MCADAM, E.L.; MCGUINNESS, P.; NICHOLS, D.S.; ROSS, J.J.; SUSSMILCH, F.C.; URQUHART, S. (2017): Linking auxin with photosynthetic rate via leaf venation. *Plant physiology*, 175: 351-360.
- MEREWITZ, E.; GIANFAGNA, T.; HUANG, B. (2011): Protein accumulation in leaves and roots associated with improved drought tolerance in creeping bentgrass expressing an ipt gene for cytokinin synthesis. *Journal of Experimental Botany*, 62: 5311-5333.
- MIR, A.R.; SIDDIQUI, H.; ALAM, P.; HAYAT, S. (2020): Foliar spray of Auxin/IAA modulates photosynthesis, elemental composition, ROS localization and antioxidant

- machinery to promote growth of *Brassica juncea*. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 26: 2503-2520.
- MOLINARI, J.; FUJINUMA, P.; A. PAGANI; M. BUYATTI; E. GIARDINA; A. DI BENEDETTO (2019): New Guinea Impatiens (*Impatiens hawkeri* Bull) hormonal effects on the post-transplant biomass accumulation. *Journal of Advances in Agriculture*, 10: 1629-1649
- MOLINARI, J.; PAGANI, A.; BUYATTI, M.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2018): Impatiens 'New Guinea' (*Impatiens hawkeri* Bull) propagation effects on the pre-transplant biomass accumulation. *International Journal of Advances in Agricultural Science*, 3: 1-15.
- MOLINARI, J.; PAGANI, A.; BUYATTI, M.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A. (2020): Effects of exogenous cytokinin application on the nursery of ornamental plants, mainly 'New Guinea' Impatiens (*Impatiens hawkeri* Bull) and on their pre- and post-transplant biomass accumulation. (pp 57-106). En: KORTESMÄKI, S. *Cytokinins: Biosynthesis and Uses*. Nova Science Publishers, New York.
- MONCADA, A.; MICELI, A.; SABATINO, L.; IAPICHINO, G.; D'ANNA, F.; VETRANO, F. (2018): Effect of molybdenum rate on yield and quality of lettuce, escarole, and curly endive grown in a floating system, *Agronomy*, 8: 171.
- MONTEIRO, A.B.; DOS SANTOS PEREIRA, I.; BAMBERG, A.L.; STÖCKER, C.M.; RIBEIRO, P.L.; TIMM, L.C. (2020): Hydro-physical characteristics of substrates for lettuce production in floating growth system. *Irriga*, 25: 629-640.
- MOUBAYIDIN, L.; DI MAMBRO, R.; SABATINI, S. (2009): Cytokinin-auxin crosstalk. *Trends in Plant Science*, 14(10): 557-562.
- MÜLLER, B.; SHEEN, J. (2008): Cytokinin and auxin interaction in root stem-cell specification during early embryogenesis. *Nature*, 453(7198): 1094-1097.
- NICOLA, S.; ERTANI, A. (2021): The floating growing system and new growing system® to grow leafy vegetables and herbs. *Acta Horticulturae*, 1321: 251-258.
- NORDEN, D.S.; WARREN, S.L.; BLAZICH, F.A.; NASH, D.L. (2008): Nitrogen nutrition of southern sea oats (*Uniola paniculata*) grown in the float system. *Journal of Environmental Horticulture*, 26(2): 80-86.
- OSUGI, A.; KOJIMA, M.; TAKEBAYASHI, Y.; UEDA, N.; KIBA, T.; SAKAKIBARA, H. (2017): Systemic transport of trans-zeatin and its precursor have differing roles in *Arabidopsis* shoots. *Nature Plants*, 3(8): 1-6.

- ÖZER, H. (2018): The effects of different seedling production systems on quality of tomato plantlets. *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 17: 15-21.
- ÖZTEKIN, G.B.; ULUDAĞ, T.; TÜZEL, Y. (2018): Growing spinach (*Spinacia oleracea* L.) in a floating system with different concentrations of nutrient solution. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16: 3333-3350.
- PAGANI, A.; J. MOLINARI; A. DI BENEDETTO (2013): BAP spray and plastic container responses on *Asparagus officinalis* L. crown growth. *Journal of Life Science*, 7 (8): 827-835.
- PAGANI, A.; J. MOLINARI; E. GIARDINA; A. DI BENEDETTO (2020): Biomass accumulation in the fern *Asplenium nidus avis* under root restriction. *Asian Journal of Agricultural and Horticultural Research*, 6(4): 1-9.
- PAGANI, A.; MOLINARI, J.; LAVADO R.; DI BENEDETTO A.H. (2015): Behavior of *Impatiens walleriana* Hook. f in alternative pot substrates: Mechanisms involved and research perspectives, *Journal of Plant Nutrition*, 38(14): 2185-2203.
- PAQUE, S.; WEIJERS, D. (2016): Q&A: Auxin: the plant molecule that influences almost anything. *BMC Biology*, 14: 1-5.
- PAS, J.; VON GROTHUSS M.; WYRWICZ, L.S.; RYCHLEWSKI, L.; BARCISZEWSKI, J. (2004): Structure prediction, evolution and ligand interaction of CHASE domain. *FEBS Letters*, 576(3):287-290.
- PEARCE, B.; PALMER, G.; BAILEY, A.; SEEBOLD, K.; TOWNSEND, L. (2008): Management of tobacco float systems. (pp 11-22). En: 2009-2010 Kentucky & Tennessee Tobacco Production Guide ID-160. K. Seebold, and B. Pearce, eds. University of Kentucky.
- PERSUNOVÁ, M.; VERNOUX, T. (2021): Auxin does the SAMba: Auxin signaling in the shoot apical meristem. *Cold Spring Harb Perspectives in Biology*, 13(12): a039925.
- PIER, (2018): Pacific islands ecosystems at risk. En: *Pacific Islands Ecosystems at Risk* Honolulu, Hawaii, USA: HEAR, University of Hawaii. Recuperado de <http://www.hear.org/pier/index.html>
- PIOTTI, M.; MOLINARI, J.; PAGANI, A.; GIARDINA, E.; A. DI BENEDETTO (2018): Root restriction effects on *Zantedeschia aethiopica*. *International Journal of Plant & Soil Science*, 23(2): 1-15.
- RAHELIVOLOLONA, E.M.; FISCHER, E.; JANSSENS, S.B.; RAZAFIMANDIMBISON, S.G. (2018): Phylogeny, infrageneric classification and species delimitation in the Malagasy *Impatiens* (Balsaminaceae). *Phyto Keys*, 110: 51-67.

- RAHMAN, A.; BANNIGAN, A.; SULAMAN, W.; PECHTER, P.; BLANCAFLOR, E.B.; BASKIN, T.I. (2007): Auxin, actin and growth of the *Arabidopsis thaliana* primary root. *The Plant Journal*, 50: 514-528.
- RATTIN, J. ; WAGNER, P.; FERREYRO, D.; RIVERTI, A.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2017a): Roots partially drive super sweet maize yield. *Journal of Experimental Agriculture International*, 16(6): 1-17.
- RATTIN, J., PICO ESTRADA, O.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2017b): Nursery pre- and post-transplant effects on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) growth and yield. *Journal of Experimental Agriculture International*, 18(5): 1-14.
- REN, T.; WERADUWAGE, S.M.; SHARKEY, T.D. (2019): Prospects for enhancing leaf photosynthetic capacity by manipulating mesophyll cell morphology. *Journal of Experimental Botany*, 70: 1153-1165.
- RIVERTI, A.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2018): Nursery water supply and biomass accumulation in super sweet maize (*sh2*). *Journal of Experimental Agriculture International*, 23 (1): 1-16.
- ROITSCH, T.; EHNEB, R. (2000): Regulation of source/sink relation by cytokinin. *Plant Growth Regulation*, 32: 359-367.
- RUCHISANSAKUN, S.; VAN DER NIET, T.; JANSSENS, S.B.; TRIBOUN, P.; TECHAPRASAN, J.; JENJITTIKUL, T.; SUKSATHAN, P. (2015): Phylogenetic analyses of molecular data and reconstruction of morphological character evolution in Asian *Impatiens* section *Semeiocardium* (Balsaminaceae). *Systematic Botany*, 40: 1063-1074.
- RUPP, H.M.; FRANK, M.; WERNER, T.; STRNAD, M.; SCHMÜLLING, T. (1999): Increased steady state mRNA levels of the STM and KNAT1 homeobox genes in cytokinin overproducing *Arabidopsis thaliana* indicate a role for cytokinins in the shoot apical meristem. *The Plant Journal*, 18(5): 557-63.
- SAKAKIBARA, H. (2021): Cytokinin biosynthesis and transport for systemic nitrogen signaling. *The Plant Journal*, 105(2): 421-430.
- SALA, A.; WILLIAMS, T.; FEURING, V.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2016): Physiological changes involved in the use of calcium cyanamide as a slow-release nitrogen fertilizer in *Impatiens walleriana* (Hook.f.). *International Journal of Plant & Soil Science*, 12(6): 1-16.

- SALINAS, M.; E. GANDOLFO; G. HAKIM; E. GIARDINA; A. DI BENEDETTO (2019): Foliar amino acids sprays on lettuce (*Lactuca sativa* L.) biomass accumulation. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 8(1): 2183-2196.
- SANIEWSKI, M.; GÓRAJ-KONIARSKA, J.; GABRYSZEWSKA, E.; MIYAMOTO, K.; UEDA, J. (2017): Differential effects of N-1-naphthylphthalamic acid (NPA) and 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) on auxin control of swelling of the shoots of *Bryophyllum calycinum* Salisb. Acta Agrobotanica, 70(3). 1723.
- SCOTT, K.J.; DALY, J.; SMITH, H.H. (1964): Effects of indoleacetic acid and kinetin on activities of enzymes of the hexose monophosphate shunt in tissue cultures of *Nicotiana*. Plant Physiology, 39: 709-712.
- SEO, D.H.; JEONG, H.; CHOI, Y.D.; JANG, G. (2021): Auxin controls the division of root endodermal cells. Plant Physiology, 187: 1577-1586.
- SHAJITHA, P.P.; DHANESH, N.R.; EBIN, P.J.; LALY, J.; ANEESHA, D.; RESHMA, J.; AUGUSTINE, J.; LINU, M. (2016): A combined chloroplast atpB-rbcL and trnL-F phylogeny unveils the ancestry of balsams (*Impatiens* spp.) in the Western Ghats of India. Biotechnology, 6(2): 1-5.
- SHANI, E.; BEN-GERA, H.; SHLEIZER-BURKO, S.; BURKO, Y.; WEISS, D.; ORI, N. (2010): Cytokinin regulates compound leaf development in tomato. Plant Cell, 22(10): 3206-3217.
- SHIMIZU-SATO, S.; TANAKA, M.; MORI, H. (2009): Auxin-cytokinin interactions in the control of shoot branching. Plant Molecular Biology, 69(4): 429-435.
- SIAGA, E.; LAKITAN, B.; BERNAS, S.M.; WIJAYA, A.; LISDA, R.; RAMADHANI, F.; WIDURI, L.I.; KARTIKA, K.; MEIHANA, M. (2018): Application of floating culture system in chili pepper (*Capsicum annum* L.) during prolonged flooding period at riparian wetland in Indonesia. Australian Journal of Crop Science, 12: 808-816.
- SINGH, D.; SINGLA-PAREEK, S.L.; PAREEK, A. (2021): Two-component signaling system in plants: interaction network and specificity in response to stress and hormones. Plant Cell Reports, 40(11): 2037-2046.
- SINGH, S.; YADAV, S.; SINGH, A.; MAHIMA, M.; SINGH, A.; GAUTAM, V.; SARKAR, A.K. (2020): Auxin signaling modulates LATERAL ROOT PRIMORDIUM 1 (LRP 1) expression during lateral root development in *Arabidopsis*. The Plant Journal, 101: 87-100.
- SKYLAR, A.; WU, X. (2011): Regulation of meristem size by cytokinin signaling. Journal of Integrative Plant Biology, 53(6): 446-454.

- SOENO, K.; SATO, A.; SHIMADA, Y. (2021): Investigation of auxin biosynthesis and action using auxin biosynthesis inhibitors. (pp 131-144). En: Plant Chemical Genomics. Humana, New York.
- STANKOVIC, B.; DAVIES, E. (2018): Communication within plant cells. En: Concepts in Cell Biology-History and Evolution. Springer. The Netherlands. (pp 205-219).
- STYER, R.C.; KORANSKI D-S. (1997): Plug and Transplant Production. A grower's Guide. Ball Publishing, Batavia, Illinois, USA.
- SU, Y.H.; LIU, Y.B.; ZHANG, X.S. (2011): Auxin cytokinin interaction regulates meristem development. *Molecular Plant*, 4(4): 616-625.
- SWAIN, A.; CHATTERJEE, S.; VISHWANATH, M. (2021): Hydroponics in vegetable crops: A review. *The Pharma Innovation Journal*, 10(6): 629-634.
- TEALE, W.; PALME, K. (2018): Naphthylphthalamic acid and the mechanism of polar auxin transport. *Journal of Experimental Botany*, 69(2): 303-312.
- THIBAUD, J.; MCLOUGHLIN, T.; PAGANI, A.; LAVADO, R.; DI BENEDETTO, A.H. (2012): Alternative substrates and fertilization routine relationships for bedding pot plants: *Impatiens walleriana*. *European Journal of Horticultural Science*, 77(4): 182-191.
- THOMSON, K.S.; HERTEL, R.; MÜLLER, S.; TAVARES, J.E. (1973): 1-N-naphthylphthalamic acid and 2,3,5-triiodobenzoic acid - In-vitro binding to particulate cell fractions and action on auxin transport in corn coleoptiles. *Planta*, 109(4): 337-352.
- TRAAS, J. (2019): Organogenesis at the shoot apical meristem. *Plants*, 8: 6.
- TSOUVALTZIS, P.; KASAMPALIS, D.S.; AKTSOGLU, D.C.; BARBAYIANNIS, N.; SIOMOS, A.S. (2020): Effect of reduced nitrogen and supplemented amino acids nutrient solution on the nutritional quality of baby green and red lettuce grown in a floating system. *Agronomy*, 10: 922.
- VAN STADEN, J.; ZAZIMALOVA, E.; GEORGE, E.F. (2008): Plant growth regulators II: Cytokinins, their analogues and antagonists. En: *Plant Propagation by Tissue Culture* (Eds. GEORGE, E.F.; HALL, M.A.; DE KLERK, G.J.), Springer, The Netherlands.
- VERMA, V.; RAVINDRAN, P.; KUMAR, P.P. (2016): Plant hormone-mediated regulation of stress responses. *BMC Plant Biology*, 16(1): 1-10.
- WANG, B.; CHU, J.; YU, T.; XU, Q.; SUN, X.; YUAN, J.; XIONG, G.; WANG, G.; WANG, Y.; LI, J. (2015): Tryptophan-independent auxin biosynthesis contributes to early embryogenesis in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(15): 4821-4826.

- WANG, Y.; JIAO, Y. (2018): Auxin and above-ground meristems. *Journal of Experimental Botany*, 69: 147-154.
- WARTON, D.I.; DUURSMA, R.A.; FALSTER, D.S.; TASKINEN, S. (2012): SMATR 3-an R package for estimation and inference about allometric lines. *Methods in Ecology and Evolution*, 3: 257-259.
- WILLIAMS, T.; SALA, A.; FEURING, V.; GIARDINA, E.; DI BENEDETTO, A.H. (2016): Relationships between plug cell size and quality substrate in the bedding pot plant *Impatiens walleriana* (Hook. F). *International Journal of Plant and Soil Science*, 12(2): 1-12.
- WOLTERS, H.; JURGENS, G. (2009): Survival of the flexible: Hormonal growth control and adaptation in plant development. *Natural Review of Genetics*, 10: 305-317.
- XIONG, Y.; JIAO, Y. (2019): The diverse roles of auxin in regulating leaf development. *Plants*, 8(7): 1-14.
- YANG, G.; YU, Z.; GAO, L.; ZHENG, C. (2019): SnRK2s at the crossroads of growth and stress responses. *Trends in Plant Science*, 24(8): 672-676.
- YANG, F.; BUI, H.T.; PAUTLER, M.; LLACA, V.; JOHNSTON, R.; LEE, B.H.; KOLBE, A.; SAKAI, H.; JACKSON, D. (2015): A maize glutaredoxin gene, *abphyl2*, regulates shoot meristem size and phyllotaxy. *Plant Cell*, 27(1): 121-31.
- YU, Z.; ZHANG, D.; XU, Y.; JIN, S.; ZHANG, L.; ZHANG, S.; YANG, G.; HUANG, J.; YAN, K.; WU, C.; ZHENG, C. (2019): CEPR2 phosphorylates and accelerates the degradation of PYR/PYLs in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 70(19): 5457-5469.
- YUAN, Y. M.; SONG, Y.; GEUTEN, K.; RAHELIVOLOLONA, E.; WOHLHAUSER, S.; FISCHER, E. (2004): Phylogeny and biogeography of Balsaminaceae inferred from ITSsequences. *Taxon*, 53: 391-403.
- ZANIN, G.; SAMBO, P.; GIANQUINTO, G.; PIMPINI, F. (2003): First attempt to force *gladiolus* and *liatris* in a floating system. *Acta Horticulturae*, 614: 227-234.
- ZHANG, T.Q.; CHEN, Y. Y.; WANG, J.W. (2021): A single-cell analysis of the *Arabidopsis* vegetative shoot apex. *Developmental Cell*, 56(7): 1056-1074.
- ZHAO, Y. (2010): Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annual Review of Plant Biology*, 61: 49-64.
- ZHAO, Z.; ANDERSEN, S.U.; LJUNG, K.; DOLEZAL, K.; MIOTK, A.; SCHULTHEISS, S.J.; LOHMANN, J.U. (2010): Hormonal control of the shoot stem-cell niche. *Nature*, 465(7301): 1089-1092.

ZWACK, P.J.; RASHOTTE, A.M. (2013): Cytokinin inhibition of leaf senescence. *Plant Signal Behavior*, 8(7):e24737.

ZWACK, P.J.; RASHOTTE, A.M. (2015): Interactions between cytokinin signalling and abiotic stress responses. *Journal of Experimental Botany*, 66(16): 4863-4871.