

COMPARATIVE ANATOMY OF FLOWER BUDS WITH AND WITHOUT POTENTIAL FOR
ABSCISSION IN *Phaseolus vulgaris*¹ /

P YAÑEZ*
E PIMIENTA**
E MARK*
J KOHASHI*

Resumen

Ovulos de botones florales con alto potencial de abscisión mostraron alto porcentaje (96%) de anomalías anatómicas e irregularidades en el desarrollo del saco embrionario. En contraste pocos (31%) óvulos de flores con bajo potencial de abscisión fueron anormales. Se observaron las siguientes anomalías anatómicas: necrosis del saco embrionario y de la nucela, ausencia o desarrollo retardado del saco embrionario. Estas y otras observaciones sugieren que la abscisión de botones florales se relaciona con las anomalías previamente desarrolladas en los óvulos

Introduction

In beans, *Phaseolus vulgaris*, abscission of reproductive organs, buds, and young pods, accounts for the loss of up to 80% of potential seeds (2, 3, 4, 17).

Published studies on aborted ovules generally treat fruits or flowers at anthesis; the flower-bud stage has passed unnoticed. Different authors have related abortion to irregularities in the development of the embryo sac or its absence (7, 12, 16), to embryo-sac degeneration (10, 13) and to collapse of the nucellus and chalaza (10, 15). These studies examine principally woody plants. Williams (18) mentions that flowers of *Phaseolus vulgaris* usually contain normal ovules. Ormrod *et al.* (9) find that high temperatures (up to 35°C) stimulate the degeneration of the embryo sac of *Phaseolus vulgaris*.

In the present study, the ovules from flower buds of bean with high potential (more prone) for abscission, with those of buds with low potential (less prone) were anatomically compared.

Material and methods

Flower buds were collected from plants (*Phaseolus vulgaris* L. Cv. Cacahuete-72) grown in a greenhouse. This is a determinate variety with terminal, subterminal and axillary inflorescences.

It was noticed that under these greenhouse conditions, the subterminal inflorescence (two flowers in the axil of a trifoliolate leaf) of the main stem almost always produces two pods with seeds. On the other hand, flowers from the second and third nodes of the terminal inflorescence of the branch at the fourth or fifth nodes, almost never produce pods. These are the chosen sites of low and high potentials for abscission. The buds were collected at the stage when the corolla was just protruding from the enveloping bracteoles. Those with high potential for abscission (12 buds) were pale green and abscised when tapped lightly with the finger. Buds with low potential for abscission (12 buds from subterminal inflorescences of the main stem) were deep green and did not abscise when tapped lightly with the finger.

¹ Received for publication in March 2, 1983

* Centro de Botánica, Colegio de Postgraduados, 56230 Chapingo, México

** Centro de Genética, Colegio de Postgraduados, 56230 Chapingo, México

The dissected ovaries were fixed in Craff III (11) and embedded in paraffin. Ten-micron sections were prepared by standard histological techniques, stained with safranin and fast green (6) and mounted in synthetic resin.

Results

The normal bean ovule is campylotropous, bitegmic and crassinucelate. The embryo sac is of the Polygonum type (Figure 1). As the embryo sac matures, the nucellar tissue desintegrates partially. The mature megagametophyte is adpressed to the inner epidermis of the inner integument.

Ovules from flower buds with high potential for abscission were characterized by higher frequencies of abnormalities. The abnormalities commonly observed were the following (Table 1): a) Necrosis of the embryo sac and the nucellus, which could occur in the same ovule (Figure 2), although in some cases necrosis of the embryo sac was not accompanied by the that of the nucellus. Necrosis could occur throughout the embryo sac or be localized (Figures 2, 3, 4), and generally was accompanied

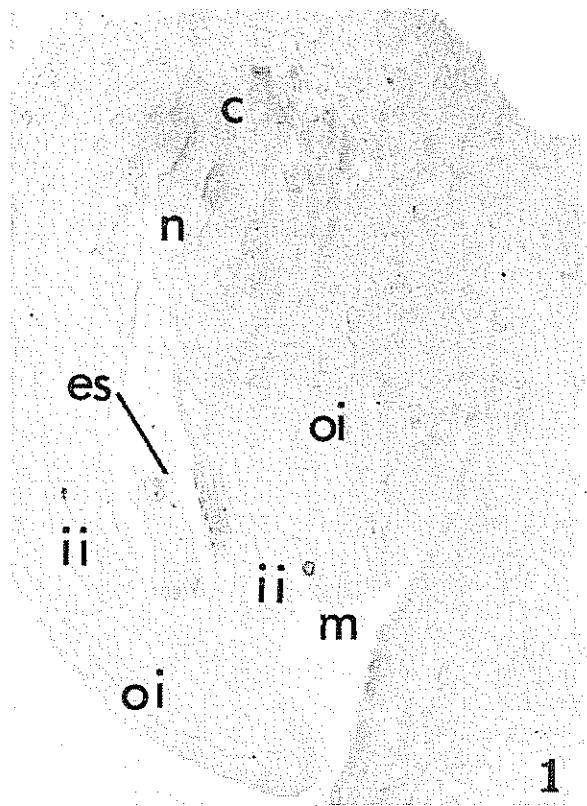


Fig 1 Ovule from a flower bud with low abscission potential. m, micropyle; oi, outer integument; ii, inner integument; n, nucellus; c, chalaza; es, embryo sac X285. All figures are of longitudinal sections.

Table 1. Percentages of necrosis and developmental irregularities in ovules of flower buds with high and low potentials for abscission.

	High Potential, %	Low Potential %
Necrosis in the whole embryo sac	27.1	7.8
Necrosis in antipodal cells	10.4	3.1
Necrosis in egg apparatus	8.3	9.4
Necrosis in chalaza	4.2	0
Necrosis in nucellus	43.8	6.2
Total ovules with necrosis	83.3*	25.0*
Total ovules without necrosis	16.7	75.0
Embryo sac absent	14.6	1.5
Differentiation arrested at 2-4 nuclei	14.6	6.3
Differentiation arrested at 4-8 nuclei	8.3	0
Mature embryo sacs, with or without necrosis	62.5	92.2
Total ovules with mature embryo sacs and without necrosis	4.1	68.8

* The percentage of ovules with necrosis is smaller than the sum of the percentages of necrosis in different parts, because some ovules had necrosis in more than one part.

by separation between the integuments or between the inner integument and the nucellar tissue (Figures 2, 3). Necrosis in the nucellus could occur close to the micropyle, around the base of the embryo sac, or alongside the whole embryo sac. A total of 83% of ovules had necrosis in one or more parts. b) Some ovules (14.6%) lacked embryo sac. c) Megagametophyte development in 23% of the ovules showed a delayed development. These abnormalities were so common that only 4% of the ovules were normal.

In contrast, in ovules from flower buds with low potential of abscission, 69% of the embryo sacs developed normally to maturity (Table 1). This is because, in ovules with low abscission potential, 25% displayed necrosis, 1.5% lacked the embryo sac and 6% had delayed gametophyte development (Table 1).

Discussion

The anatomical abnormalities detected mainly in flower buds with high abscission potential are similar to those reported in studies of ovule abortion in bean (9, 18) and other species (7, 10, 12, 13, 15, 16). Different types of abnormalities frequently exist, and they occur at several stages in development.

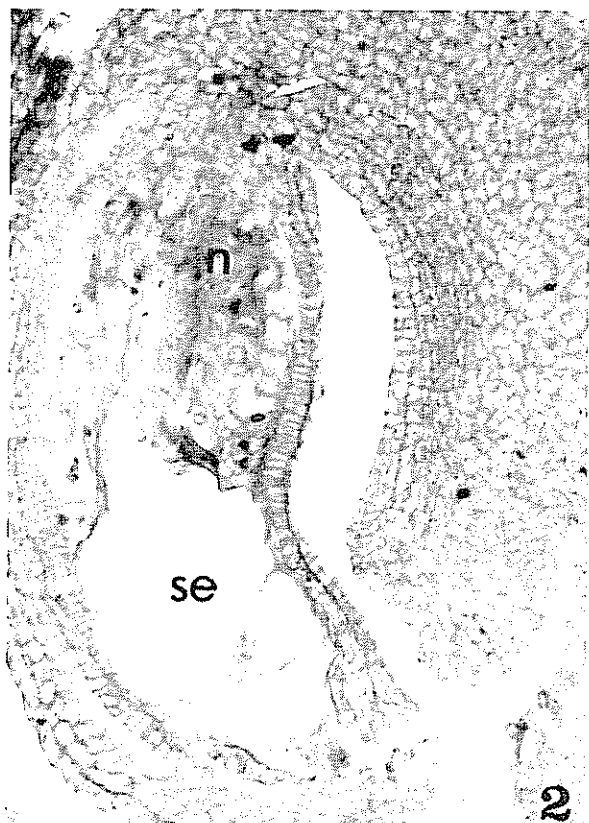


Fig 2. Ovule from a flower bud, with high abscission potential showing necrosis of the embryo sac (se) and of the nucellus (n). X373

The physiological mechanism for the control of flower bud abscission is not fully understood (14). Our observations suggest that this mechanism affects the development of the embryo sac and induces senescence of both the embryo sac and nucellar tissue.

Adato and Gazit (1) reported that young fruits of avocado produce ethylene mainly in the seed coat, and expressed the opinion that this may induce abscission in young fruits. Sedgley (12) attributes the rise in ethylene to arrested development of the fruits. In the case of *Phaseolus* buds with high potential for abscission, the possibility exists that senescent embryo-sac and nucellar tissue might be a source of synthesis of ethylene, which is well known to stimulate the processes leading to abscission by inhibiting polar auxin transport (5). Observations by one of us (PYJ) have shown that anatomical abnormalities precede the formation of the abscission zone. This suggests that anatomical abnormalities play an important role in abscission of flower buds. However, Sedgley (12) indicates that degeneration of the embryo sac does not cause abscission, but that these two phenomena possibly are due to inefficient distri-

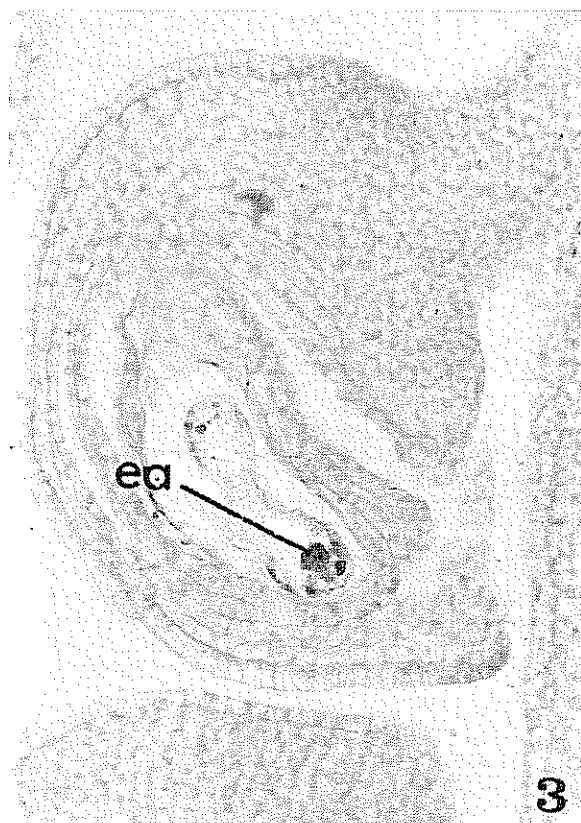


Fig 3. Ovule from a flower bud with high abscission potential, showing necrosis of the egg apparatus (ea). X405

bution of water and nutrients, cessation of growth, and production of ethylene.

Such a mechanism may be related to correlative senescence, by which the abscission of one organ is controlled by another organ (8). If this were the case, it might be possible that flower buds with low abscission potential stimulate the abscission of those with high abscission potential, giving rise first to developmental abnormalities. The normal embryo sac might attract more photosynthates into the developing ovules. Failure or alteration of the normal development of the embryo sac thus would reduce that attraction, triggering abscission.

Summary

Ovules from flower buds with high potential for abscission showed a high percentage (96%) of anatomical abnormalities and irregularities in the development of the embryo sac. In contrast, few (31%) ovules from flowers with low potential for abscission were abnormal. The following anatomical abnormalities were identified: necrosis of embryo sac and nucellus, absence or delayed development of embryo

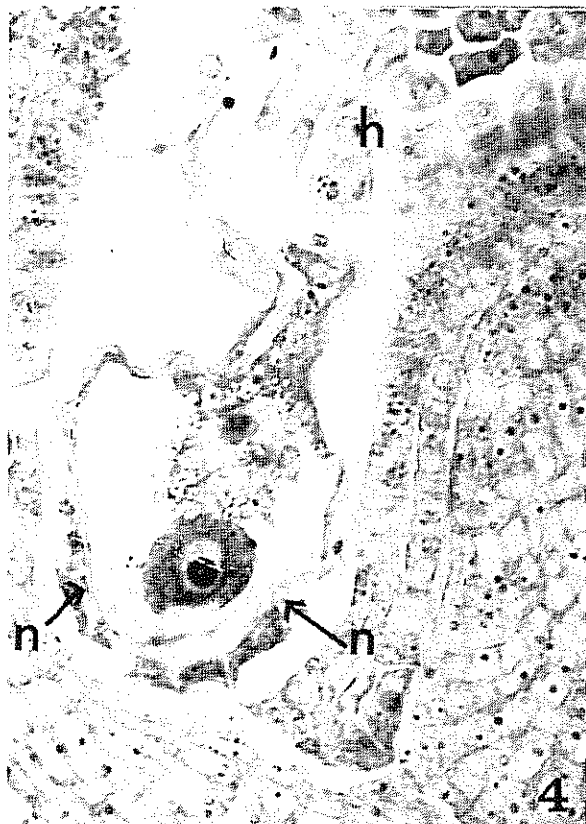


Fig 4 Ovule from a flower bud with high abscission potential showing necrosis of the embryo sac in an early ontogenetic stage, collapse of the nucellus (arrows), hyperplasia (h) of the nucellus. 737X

sac. These and other observations suggest that abscission of the flower buds is related to previously developed anatomical abnormalities in the ovules.

Literature cited

- ADATO, I., and GAZIT, S. Role of ethylene in avocado fruit development and ripening. II. Ethylene production and respiration by harvested fruits. *Journal of Experimental Botany* 28:644-649. 1977.
- DIAZ M. F., and KOHASHI S., J. Distribución de materia seca en el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) bajo condiciones de campo. *Turrialba* 32:19-27. 1982.
- ESCALANTE E., J. A. S., KOHASHI-S., J., and GOMEZ R., O. B. Efecto del sombreado artificial en tres épocas a partir de la floración sobre el rendimiento en semillas y sus componentes del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Agrociencia* 42:5-16. 1980.
- FANJUL, L., KOHASHI--SHIBATA, J., and HERNANDEZ--XOLOCOTZI, E. Yield potential and stratified growth analysis of an indeterminate climbing pole bean (*Phaseolus vulgaris*) in México. *Experimental Agriculture* 18:167-175. 1982.
- GOLDSMITH, M. H. M. The polar transport of auxin. *Annual Review of Plant Physiology* 28:439-478. 1977.
- JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill, New York. 1940 523 p.
- MOGENSEN, H. L. Ovule abortion in *Quercus* (Fagaceae). *American Journal of Botany* 62:160-165. 1975.
- NOODEN, L. D., and LEOPOLD, A. C. *Phytohormones and related compounds. A comprehensive treatise. Vol II*. Elsevier, North-Holland biomedical Press. 1978. pp 329-369.
- ORMROD, D. P., WOOLLEY, C. J., EATON, G. W., and STOBBE, E. H. Effect of temperature on embryo sac development in *Phaseolus vulgaris* L. *Canadian Journal of Botany* 45:948-950. 1967.
- PIMIENTA, E., and POLITO, V. S. Ovule abortion in 'Nompareil' almond (*Prunus dulcis* (Mill) D. A. Webb). *American Journal of Botany* 69:913-920. 1982.
- SASS, J. E. *Botanical Microtechnique*. Iowa State College Press, Ames. 1958 228 p.
- SEDGLEY, M. Anatomical investigation of abscised avocado flowers and fruitlets. *Annals of Botany* 46:771-777. 1980.
- SREE RANGASAMY, S. R., and VIJENDRA DAS, L. D. Seedlessness in triploid guava (*Psidium guajava* L.). *Embryological studies. Canadian Journal of Genetics and Cytology* 15:331-334. 1973.
- STEPHENSON, A. G. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12:253-279. 1981.
- THOMPSON, M. M., and LIU, L. J. Temperature, fruit set, and embryo sac development in 'Italian' prune. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences* 98:193-197. 1973.

16. TOMER, E., and GOTTRICH, M. Defective ovules in avocado cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences* 101:620-623 1976.
17. WEBSTER, B. D., CRAIG, M. E., and TUCKER, C. L. Effects of ethephon on abscission of vegetative and reproductive structures of *Phaseolus vulgaris* L. *Horticultural Science* 10:154-156. 1975.
18. WILLIAMS, D. D. F. Influence of soil moisture level on flower abscission, ovule abortion and seed development in the snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Ph. D. Thesis. University of Wisconsin 1962. 74 p. (Dissertation Abstracts 22:29-33 1962).

Notas y comentarios

Hacia la fotosíntesis artificial

La conversión artificial de la energía solar a energía química potencial, fuera del reino vegetal y en el laboratorio, está acercándose a la realidad. Hemos dado cuenta hace algún tiempo de los avances y dificultades de los equipos dirigidos por Mervin Calvin, en California, y por Sir George Porter, en Londres (*Turrialba* Vol. 29, p. 137, 1979). Los trabajos de estos dos premios Nobel (1961 y 1967, respectivamente) desatacaban la importancia de las porfirinas y quinonas en el intercambio rápido de electrones, necesario para la fotosíntesis. Ahora, una nueva molécula, que simula los procesos fundamentales que dan lugar a la fotosíntesis, ha sido elaborada y podría abrir el camino a sistemas fotosintéticos artificiales más eficientes. El trabajo ha involucrado a 12 científicos de Estados Unidos, Francia y Gran Bretaña, todos coordinados por Thomas Moore, de la Universidad del Estado de Arizona (*Nature*, Vol. 307, p. 630, 1983).

El paso clave en la fotosíntesis es lo que se ha llamado "separación de carga fotoimpelida". La luz atrapada por las "antenas" de la clorofila se cree que excita electrones, los que son sacados rápidamente a través de una membrana. Son usados para generar ciertas moléculas de alta energía que posteriormente ayudan en la conversión del dióxido de carbono a carbohidratos.

Mientras tanto, la carga positiva, o "hueco", que queda en la clorofila es rellenado con electrones procedentes de moléculas cercanas de agua. Estas son oxidadas, produciendo oxígeno en el proceso. Pero, al conducir rápidamente los electrones excitados lejos de las antenas clorofílicas (mediante moléculas atrapadoras de electrones, llamadas quinonas), la naturaleza asegura que las cargas positivas y negativas, inducidas por la luz, permanecen separadas. Esto reduce la pérdida de energía por recombinación de cargas (o retroacción).

Ahora bien, si los convertidores biomiméticos se espera que funcionen por tiempos largos y eficientemente, deben atacar los dos problemas, de separación de cargas y de prevención de retroacción. El primero de estos es relativamente fácil; los químicos han hecho moléculas con grupos especiales que pueden o aceptar electrones excitados o donar electrones para los "huecos" dejados por los primeros. La dificultad está en que las moléculas de carga separada son de una vida demasiado corta para ser de algún uso práctico. Aquí entra la esposa de Moore, uno de los arquitectos principales de la nueva molécula.

La retroacción es prevenida mediante la incorporación en la misma molécula, tanto de los grupos aceptadores de electrones como de los donadores de electrones. El corazón de este sistema captador de luz es una porfirina, un pariente cercano de la clorofila. En un costado de la porfirina se encaja un grupo quinona. Este agarrará cualquier electrón que levante su cabecita excitada por la luz por encima del parapeto de energía potencial de la porfirina. En el otro lado

de la porfirina está un grupo betacaroteno largo y errático que rápidamente completa cualquier déficit electrónico en la porfirina. Entre ellos, los dos grupos pueden desviar cargas a través de la molécula unos 10 000 millones de veces más rápido que un servicio de John McEnroe. Funciona de la manera siguiente

Un electrón fotoexcitado deja la porfirina y pasa a la quinona, pero antes de que pueda saltar de regreso, el betacaroteno dona un electrón a la porfirina. El resultado final es una molécula de carga separada que es de relativa longevidad (unas 3 millonésimas de segundo comparado con 3 billonésimas para una porfirina quinona simple es decir 3^{-6} contra 3^{-12} en la notación en español). La carga negativa está situada en la quinona, mientras que la carga positiva está segura, guardada en el betacaroteno.

El parecido del comportamiento de esta molécula con las antenas de la clorofila en la fotosíntesis natural es fantástico. Por una parte, el desacoplamiento de las cargas en la molécula se deriva de lo que los fotoquímicos llaman estado excitado simple ("singlet excited state"). Cuando una molécula es fotoexcitada, el electrón salta tan rápido a un estado más alto de energía que no tiene tiempo de cambiar su momento angular de rotación ("spin"). Esto significa que todos los electrones en la molécula están todavía apareados en su spin, una condición llamada el estado simple. Sin embargo, muy rápidamente, el

electrón excitado puede cambiar su spin al módulo opuesto. Esto quiere decir que hay ahora dos electrones en la molécula con spins no apareados. Esto se llama el estado triplete y tiene menos energía que el estado simple.

En la nueva molécula, la separación de cargas es tan rápida que el electrón no tiene tiempo de cambiar su spin antes de ser arrebatado por la quinona, al igual que en la fotosíntesis. No hay tiempo para que se pierda energía en formar el estado triplete.

Pero hay algo más. El betacaroteno también protege a la molécula del daño por la luz. El betacaroteno efectúa esta protección de dos maneras. Primero, enjuga cualquier oxígeno en estado simple que pueda producir la porfirina. Segundo, aceptará los electrones excitados en estado triplete que provengan de la porfirina. Ahora bien, las porfirinas en estado triplete son particularmente susceptibles al ataque del oxígeno en estado simple. El caroteno rompe la relación destructiva entre porfirinas y oxígeno.

La otra función del betacaroteno es extender el ámbito de longitudes de onda que las antenas de la clorofila pueden recoger. En la nueva molécula, el caroteno ejerce la misma función pero sólo con una eficiencia de 10 por ciento, comparado con el sistema natural. Adalberto Gorbitz