

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO



CARACTERÍSTICAS POMOLÓGICAS E IDENTIFICACIÓN DE GIBERELINAS
EN MUTANTES DE MANZANO 'GOLDEN DELICIOUS'

Tesis

Que Presenta BONNY YAZMIN ALVIZO MEDRANO

Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERIA DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2017

CARACTERÍSTICAS POMOLÓGICAS E IDENTIFICACIÓN DE GIBERELINAS
EN MUTANTES DE MANZANO 'GOLDEN DELICIOUS'

Tesis

Elaborada por BONNY YAZMIN ALVIZO MEDRANO como requisito parcial
para obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA DE
SISTEMAS DE PRODUCCIÓN con la supervisión y aprobación del
Comité de Asesoría

Dr. Homero Ramírez Rodríguez
Asesor principal

Dra. Diana Jasso Cantú
Asesor

Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla
Asesor

Dr. Raúl Rodríguez García
Asesor

Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal
Subdirectora de Posgrado

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2017

AGRADECIMIENTOS

A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO, mi ALMA MATER, por haberme recibido en su seno y haberme formado a nivel licenciatura y maestría.

AL POSGRADO INGENIERIA DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN, en especial a todos los maestros por su paciencia y por transmitirme sus valiosos conocimientos para la finalización de mis estudios de posgrado

A EL DR. HOMERO RAMÍREZ RODRÍGUEZ, por creer en mí y permitirme colaborar en la realización de este proyecto por su gran apoyo y disposición para la revisión de este trabajo.

A LA DRA. DIANA JASSO CANTÚ, por su apoyo y acertadas sugerencias en la revisión de la presente tesis.

A EL DR. JOSÉ ÁNGEL VILLARREAL QUINTANILLA, por su disposición y acertadas sugerencias para la revisión del presente trabajo de investigación.

A EL DR. RAÚL RODRIGUEZ GARCÍA, por su apoyo y acertadas sugerencias en la revisión de la presente tesis.

A mis compañeros de ISP, por haber hecho agradable mi estancia en esta universidad.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias INIFAP, por la información aportada para el presente proyecto de tesis.

Al CONACYT por el apoyo becario que me otorgó durante mis estudios de maestría.

DEDICATORIAS

A Dios: porque me permite llegar a cumplir un logro más en mi vida por que sin él delante de mí jamás hubiera llegado a donde estoy, por las puertas que me ha abierto y por todos los días que me permite caminar junto a él, gracias.

A mi esposo: Isaac Irving Camacho Aguilar, por ser mi compañero de vida, por ser una columna firme para apoyarse en las tempestades. Gracias por tu amor, por siempre creer en mí y sobre todo permitirme crecer profesionalmente. Gracias a ti, la maestría ya es una realidad. Te amo y te admiro...

A mis padres y Hermanos: Leovigildo Alvizo Cano y Laura Leticia Medrano Medina, Laura, Wendy y Alejandro por aceptarme como soy y ser mi refugio en el cual comparto grandes momentos y por su eterno apoyo y amor.

A mis sobrinos: Rodrigo y Emiliano por el amor y la alegría que nos brindan desde que llegaron a nuestras vidas.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	iv
INDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	3
HIPOTESIS.....	3
REVISION DE LITERATURA.....	4
Taxonomía del manzano.....	4
Morfología del manzano.....	4
Bromatología del manzano.....	6
Plantación.....	8
Reposo.....	8
Desborre.....	8
Brotación.....	9
Floración.....	9
Amarre de fruto y desarrollo.....	10
Madurez de fruto.....	10
Cosecha.....	10
Importancia en México.....	11
Mutaciones.....	14
Mutantes de Golden Delicious.....	14
Giberelinas en manzano.....	15
MATERIALES Y METODOS.....	16
Frio invernal.....	16
Área de estudio.....	16

Evaluación fenotípica de mutantes Golden Delicious	17
Contenido bromatológico en frutos de mutantes de manzano.....	18
Análisis de giberelinas endógenas	18
Translocación	18
Ápices y semillas	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
Inviernos deficientes	22
Caracterización del fenotipo	23
Mutante Aguanueva II.....	24
Mutante “Brotador”.....	25
Mutante “Tunal”	26
Mutante “PRIMICIA” (Paco).....	27
Características pomológicas.....	29
Contenido bromatológico en frutos	31
Giberelinas endógenas.....	32
Identificación de giberelinas en ápice y semillas	33
CONCLUSIONES	38
REFERENCIAS	39

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Valor nutricional del fruto de manzano.	7
Cuadro 2. Acumulación de unidades frío según el modelo Utah en las regiones de Jamé y Huachichil en Arteaga Coahuila, México.	22
Cuadro 3. Caracterización pomológica de mutantes de manzano ‘Golden Delicious’	31
Cuadro 4. Componentes de la calidad de la fruta en mutantes de manzano ‘Golden Delicious’	32
Cuadro 5. Radioactividad en dardos de manzano 48 horas después de inyectar 0.5 µCi de [³ H]- AG ₄ a semillas de frutos.	33
Cuadro 6. Giberelinas en el ápice y tejido de semilla de fruta en mutantes de manzano ‘Golden Delicious’	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización del área de estudio en manzano en Arteaga, Coahuila.	17
Figura 2. Diagrama de flujo para el procedimiento de extracción, purificación y medición de [³ H] AG ₄ en semillas de manzano por centelleo.....	20
Figura 3. Diagrama de flujo para el procedimiento de extracción, purificación e identificación de giberelinas en ápices y semillas de manzano utilizando GC-MS.	22
Figura 4. Árbol y fruto del cultivar Golden Delicious, Arteaga, Coahuila	24
Figura 5. Árbol y fruto del mutante Aguanueva II, en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila.	25
Figura 6. Árbol y fruto del mutante Golden Brotador, San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila	26
Figura 7. Árbol y fruto del mutante Golden Tunal en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila.	27
Figura 8 . Árbol y fruto del mutante Golden Primicia (Paco) en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila.....	29
Figura 9. Espectro de masas para las giberelinas: A ₁ (a), A ₄ (b), 15-β OH-A ₄ (c), A ₇ (d), 15-βOH-A ₇ (e), A ₉ (f), A ₁₂ (g), A ₁₅ (h), A ₁₇ (i), A ₂₀ (j), A ₄₄ (k), A ₅₃ (l), identificadas en mutantes de manzano Golden Delicious.	36
Figura 10. Fórmula de giberelinas identificadas en el ápice y en semillas de mutantes de manzano Golden Delicious.	37

RESUMEN

CARACTERÍSTICAS POMOLÓGICAS E IDENTIFICACIÓN DE GIBERELINAS
EN MUTANTES DE MANZANO 'GOLDEN DELICIOUS'

POR

BONNY YAZMIN ALVIZO MEDRANO
MAESTRÍA EN INGENIERIA DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DR. HOMERO RAMÍREZ RODRÍGUEZ -ASESOR-

Saltillo, Coahuila

Diciembre 2017

El manzano es un cultivo importante para las regiones de Coahuila y Nuevo León en donde se reporta una superficie de poco más de 8000 hectáreas; siendo el cultivar Golden Delicious (GD) el que domina. El cambio climático y como consecuencia la falta de frío invernal, ha ocasionado que en los últimos 4-5 años los árboles se comporten más vegetativos y menos productivos al tener brotaciones erráticas, poco cuajado de fruto reflejando menos rendimiento y calidad de fruto cosechado. La falta de frío invernal ha sido factor para que el frutal muestre cambios fisiológicos y por ende, fenotípicos. Se han detectado varios mutantes de este cultivar con menor requerimiento de frío invernal los cuales se han denominado: 'Aguanueva II', 'Brotador', 'Primicia' y 'Tunal'. Esta investigación se realizó con el objetivo de conocer las características pomológicas e investigar la posible existencia de giberelinas endógenas en ápices y en semillas de frutas inmaduras y su posible translocación en el dardo. En base a la acumulación de frío invernal 2016-2017, se evaluó el fenotipo de árbol y las características pomológicas y bromatológicas de fruto maduro. Se observó en los mutantes un comportamiento fenotípico, pomológico y calidad de fruto similar al del Golden Delicious. Cualquier mutante presentó mayor rendimiento que el GD. Cuando se inyectó 10 µl de 50% de solución de etanol con 0.5 µCi de [³H]- AG₄ a semillas de frutos intactos, se detectó mayor acumulación de esta giberelina radioactiva en la yema meristemática del dardo. Ápices de brotes con 10 cm de longitud y semillas inmaduras de frutos se recolectaron en la primavera para análisis de giberelinas endógenas utilizando la técnica de cromatografía de gases - espectrometría de masas (GC - MS). Se detectó en el ápice de todos los mutantes las giberelinas A₄ y A₇; mientras que A₁ sólo fue localizada en 'Aguanueva II' y 'Primicia'. Giberelinas inactivas también se encontraron en algunos de ellos. En las semillas de frutas, las giberelinas biológicamente activas A₄ y A₇ fueron identificadas en todos los mutantes; mientras que, GA₁ fue identificado en 'Aguanueva II'. Las giberelinas biológicamente inactivas A₉, A₁₂, A₁₇, A₂₀, A₄₄ y A₅₃ también se identificaron entre estos mutantes de manzana. Se concluye que los mutantes de manzana: Aguanueva II, Primicia, Brotador y Tunal se comportan fenotípica y

pomológicamente similar al Golden Delicious normal; las giberelinas en las semillas y el ápice no alteran el fenotipo del GD normal; y, las giberelinas A₄ y A₇ están consistentemente presentes en los mutantes de manzano.

Palabras clave: Mutantes, *Malus doméstica*, biorreguladores, ápice, semillas.

ABSTRACT

POMOLOGICAL CHARACTERISTICS AND IDENTIFICATION OF
GIBBERELLINS IN APPLE MUTANTS 'GOLDEN DELICIOUS'

BY

BONNY YAZMIN ALVIZO MEDRANO

MASTER OF SCIENCE IN PRODUCTION SYSTEMS ENGINEERING
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DR. HOMERO RAMÍREZ RODRÍGUEZ. ADVISOR

SALTILLO, COAHUILA

DECEMBER 2017

Apple is an important crop for the regions of Coahuila and Nuevo Leon where, over a 8000 hectares surface is established; being Golden Delicious (GD) the most important cultivar. Climate change in last 4-5 years has resulted in a lack of winter chilling causing in trees to behave more vegetative and less productive with erratic bud breaking and low fruit set. The lack of winter chilling has been a factor for the apple tree to reflect physiological and phenotypic changes. Several mutants of this cultivar with less chilling requirement have been detected and have been named: 'Aguanueva II', 'Brotador', 'Primicia' and 'Tunal'. This research was conducted with the objective to know on the pomological characteristics, to learn on the possible presence of endogenous gibberellins in apex and seeds of immature fruits and its translocation within the spur tissue in referred apple mutants. Based on winter chilling accumulation data for 2016-2017, tree phenotype and pomological and bromatological characteristics in ripen fruit were evaluated. It was observed in all mutants a similar behaviour pattern in phenotype, pomological and fruit quality profile as that for Golden Delicious. Yield was higher in any mutant than in GD. When 10 µl of 50% ethanolic solution with 0.5 µCi of [³H]- AG₄ was injected to immature fruit seeds, more radioactive gibberellin was detected in the spur tissue. Apices from 10 cm new growth and immature fruit seeds were collected early in the spring for gibberellin identification using the gas chromatography - mass spectrometry (GC - MS) technique. The presence of gibberellins A₄ and A₇ was found at the apex of all mutants; While A₁ was detected only in 'Aguanueva II' and 'Primicia'. Inactive gibberellinss were also found in some of them. In fruit seeds, the biologically active gibberellins A₄ and A₇ were present in all mutants; Whilst AG₁ was identified in 'Aguanueva II'. Several inactive gibberellins such as A₉, A₁₂, A₁₇, A₂₀, A₄₄ y A₅₃ were also present among these apple mutants. It was concluded that the apple mutants Aguanueva II, Primicia, Brotador and Tunal behave in a similar pattern as the normal Golden Delicious; the active gibberellins in seeds and in the apex, do not alter the phenotype of the normal

GD and the gibberellins A₄ and A₇ are consistently present in the studied apple mutants

Key words: Mutants, *Malus domestica*, bioregulators, apex, seeds.

INTRODUCCIÓN

En años recientes son evidentes los efectos adversos que el cambio climático está causando en las especies frutícolas establecidas en diferentes partes del mundo. La temperatura en particular se ha modificado drásticamente originando un desfase pomológico entre diferentes especies frutales de clima templado. Las temperaturas invernales necesarias para la acumulación de unidades frío en frutales caducifolios que les permita tener una brotación adecuada de yemas florales y vegetativas en la primavera se han reducido notablemente como resultado del fenómeno mencionado (Petri *et al.*, 2014). Esta deficiencia en frío invernal afecta en la actualidad regiones como Arteaga Coahuila en México, en donde un alto número de huertas de manzano están establecidas. Los resultados de ello se reflejan en brotaciones muy débiles y escasas, flores de mala calidad, caída de flores y frutos (Ramírez *et al.*, 2014). Estas condiciones obviamente merman rendimiento por hectárea y restan calidad a la fruta cosechada; perdiendo con ello, competencia de mercado para el producto cosechado. El uso de compensadores de frío como cianamida hidrogenada se ha utilizado en manzano, vid y nogales como una alternativa para el cumplimiento de frío fisiológico; sin embargo, su aplicación no garantiza una buena cosecha y si aumenta el costo de producción (Ramírez, 2001).

El manzano es un cultivo importante para la región Coahuila-Nuevo León en donde se reporta una superficie de poco más de 8000 hectáreas; siendo el cultivar Golden Delicious (GD) el que domina. En 2015 Coahuila produjo más de 36 mil toneladas de manzana, 9.8 por ciento de la participación total, con un valor de 387 millones de pesos (Sagarpa, 2015). El cambio climático y como consecuencia la falta de frío invernal, ha ocasionado que en los últimos 4-5 años los árboles se comporten más vegetativos y menos productivos al tener brotaciones erráticas y poco cuajado de fruta. La falta de frío invernal ha sido factor para que el frutal refleje cambios fisiológicos y por ende, fenotípicos. Lo anterior ha ocasionado que emerjan “mutaciones” en varias huertas de la región; de los cuales, cuatro han sobresalido por su porte entre los productores.

Los mismos, han sido bautizados como Primicia, Tunal, Brotador y Agua Nueva II; y por lo tanto, su evaluación es importante y necesaria para saber si representan una alternativa para substituir al cultivar Golden Delicious normal (Contreras de la Reé y Vázquez–Ramos, 2010).

Los biorreguladores son compuestos orgánicos de origen natural, que en pequeñas concentraciones, aceleran, inhiben o modifican los procesos fisiológicos de las plantas (Ayala, *et al.*, 2000). Botta *et al.*, (2012) mencionan que los biorreguladores son compuestos capaces de aumentar el desarrollo de las plantas, acelera el alargamiento y la división celular, así como incrementar la producción de biomasa y rendimiento en cultivos de importancia económica. También ayudan a potenciar la resistencia a bajas temperaturas, disminuyen el daño producido por los herbicidas en las cosechas y favorecen el desarrollo de las plantas en estrés hídrico, así como la tolerancia a la salinidad del suelo (Yokota y Takahashi, 1986).

El rol de las giberelinas en la fisiología del manzano ha sido ampliamente estudiado. Está bien documentado que estas hormonas están presentes en el ápice a principios de la primavera cuando inicia el crecimiento de los brotes (Ayala *et al.*, 2000; Bangerth, 2008; Costa *et al.*, 2006). Las giberelinas biológicamente activas A_4 y A_7 están directamente relacionados como promotores del crecimiento de los brotes (Rademacher, 2000) como resultado de la división celular en el meristemo subapical y el alargamiento aumentado de las células (Bangerth, 2006). La presencia de giberelinas biológicamente activas en semillas inmaduras de manzano se ha relacionado ampliamente con el crecimiento de los frutos durante la temporada y con la inhibición en la formación floral del año siguiente (Ramírez *et al.*, 2014). En la actualidad, las hormonas vegetales o biorreguladores ofrecen una magnífica oportunidad para mejorar los sistemas de producción hortícolas. El uso de estas sustancias tiene la ventaja de producir efectos que no son permanentes y por lo tanto, de ser modificados de acuerdo a las necesidades del horticultor (Ramírez, 2014).

En base a lo anterior, el propósito de la presente investigación fue, evaluar las características pomológicas de los mutantes de manzano Primicia, Tunal,

Brotador y Agua Nueva II; y, conocer la posible presencia de giberelinas endógenas en ápices y semillas inmaduras en frutos; y con los resultados, establecer una alternativa de manzano con requerimiento de menos frío para la región de Arteaga Coahuila.

OBJETIVO GENERAL

Conocer las características pomológicas e investigar la posible existencia de giberelinas endógenas en ápices y en semillas de frutas inmaduras en los mutantes de manzana.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Establecer si los mutantes de manzana son una alternativa para los productores.
2. Determinar que giberelinas se encuentran presentes en los mutantes de manzana.
3. Establecer si las giberelinas en las semillas y el ápice no alteran el fenotipo del Golden Delicious original.

HIPOTESIS

Los mutantes del cultivar Golden Delicious: Aguanueva II, Brotador, Primicia y Tunal son una alternativa para la región manzanera de Arteaga Coahuila.

REVISION DE LITERATURA

Taxonomía del manzano

El manzano es originario de Europa y Asia, y se cultivaba en el Caúcaso desde hace seis mil años, era una fruta agria en su inicio y se fue perfeccionando con la cultura grecorromana siendo en la Edad Media, una fruta muy apreciada y extendida que se podía adquirir a bajo precio. Fue introducida a España por los pueblos del norte de África y durante el proceso de romanización de la península. El siglo XIX representó una época de grandes esfuerzos para la mejora del manzano, en la actualidad, es uno de los frutos más populares y disponible durante todo el año(Contreras de la Reé y Vázquez –Ramos, 2010,Luckwill, 1976).

Morfología del manzano

Pertenece a la familia de las Rosáceas, su nombre científico es *Malus doméstica*, alcanza hasta 10 metros de altura y tiene una copa globosa. Las flores son, hermafroditas, grandes, de color rosa pálido, a veces blanco y en número de 3-6 unidades. La floración se lleva a cabo en la primavera, generalmente en abril o mayo, y se cosechan al final de verano o principio del otoño, pero varía en función de la variedad y del clima (Álvarez, 2001).

El manzano es más resistente al frío que el peral, necesita menor temperatura y luz para su maduración. Soportará el exceso de frío que el calor y prefiere los climas húmedos a los secos, tolerando temperaturas inferiores a los -10°C, sin que por ello afecte a su corteza, aunque al descender por debajo de los -15°C pueden perderse algunas yemas florales. Las flores son sensibles a las heladas tardías de primavera. (Álvarez, 2001).

La raíz es más bien rastrera y menos ramificada que el peral, el tronco es erecto, con la corteza cubierta de lenticelos, lisa, unida de color ceniciento verdoso, sobre las ramas; escamosa y gris parda sobre las partes viejas del árbol. Tiene una vida de aproximadamente sesenta a ochenta años, su vida útil puede llegar a la mitad del tiempo dependiendo del manejo.

La madera del árbol tiene un color pardo, es dura, compacta y susceptible de pulimento; los anillos leñosos de las ramas y del tronco son de color azul oscuro y se hacen compactos.

Las ramas se insertan en ángulo abierto del tallo, aunque dependiendo del clima éste ángulo es agudo, son de color verde oscuro o cenizo a veces, con porta injertos mejorados poseen yemas aplicadas y tomentosas, y de manera silvestre son glabras.

Las hojas son ovales, acuminadas, aserradas con dientes obtusos, blandas; en el envés son verde claro y tomentosas o glabras, según si el manzano es cultivado o silvestre, son el doble de largas que el pecíolo, con 4 a 8 nervaduras alternadas y bien desarrolladas.

Las flores son grandes, casi sentadas o cortamente pedunculadas; se abren unos días antes que las hojas. Son hermafroditas, de color rosa pálido, a veces blanco y en número de tres a seis unidades en corimbo.

Los frutos son globosos, del grupo de los pomos, con un pedúnculo corto y contienen dos semillas por carpelo que son de color pardo brillante cuando éstos están maduros.

En las angiospermas, después de la polinización y de la fecundación se inicia la formación de semillas las cuales se convertirán en los centros de control del desarrollo del fruto. En manzano con frecuencia, el peso final es conforme al número de semillas desarrolladas.

El tamaño y forma de algunos frutos pueden presentar ciertas alteraciones como consecuencia del aborto de algunas semillas y el desarrollo deficiente de los tejidos próximos a ellas. El aborto masivo de las semillas ha dado lugar a una caída prematura de los frutos.

Una vez comenzado el desarrollo de las semillas, estas adquieren un extraordinario protagonismo sobre la regulación del crecimiento y desarrollo del fruto. En muchos frutos se ha demostrado la existencia de una relación lineal entre número y tamaño de las semillas con la tasa del crecimiento, el tamaño y el peso final del fruto. Esto se debe en gran medida a la intensa actividad de biosíntesis de sustancias hormonales localizada en ellas.

Una estrecha relación parece establecerse entre la producción de auxinas, giberelinas y citoquininas por parte de las semillas y el crecimiento del fruto (Ramírez *et al.*, 2014).

Esto sugiere que las semillas influyen en el desarrollo de los tejidos del fruto, y que regulan su crecimiento hormonalmente, es decir, por las sustancias de crecimiento que poseen, y que son limitantes en los tejidos del fruto (Hoad, 1978).

Bromatología del manzano

Dado a sus sabor y fragancia los frutos del manzano son muy apetecidos por el hombre. Contienen alrededor de 12 a 17% de azúcares, y minerales como el anhídrido fosfórico y la potasa.

Las cualidades desde el punto de vista dietético son ampliamente reconocidas. El contenido de vitamina C es variable según el tipo de variedad y las condiciones de almacenamiento. En el cuadro 1 se presenta el valor nutricional del fruto de manzano.

Cuadro1. Valor nutricional del fruto de manzano.

Valor nutricional de la manzana en 100g de sustancia comestible

Agua (g)	84
Proteínas (g)	0.3
Lípidos (g)	0.6
Carbohidratos (g)	15
Calorías (kcal)	58
Vitamina A (U.I)	90
Vitamina B1 (mg)	0.04
Vitamina B2 (mg)	0.02
Vitamina B6 (mg)	0.03
Ácido nicotínico (mg)	0.1
Ácido pantoténico (mg)	0.1
Vitamina C (mg)	5
Ácido málico (mg)	270-1020
Ácido cítrico (mg)	0-30
Ácido oxálico (mg)	1.5
Sodio (mg)	1
Potasio (mg)	116
Calcio (mg)	7
Magnesio (mg)	5
Manganeso (mg)	0.07
Hierro (mg)	0.3
Cobre (mg)	0.08
Fósforo (mg)	10
Azufre (mg)	5
Cloro (mg)	4

Plantación

Los manzanos se plantan durante el periodo de reposo de la savia. Este periodo dura aproximadamente desde la caída de la hoja en el otoño hasta la nueva brotación en primavera. Los marcos de plantación son muy variables, dependiendo de los patrones empleados, y de las distintas formaciones. Normalmente las distancias entre árboles pueden oscilar entre 2-3 m para el cordón horizontal sencillo. Las densidades de plantación oscilan entre los 1500 y los 3000 árboles/ha en los sistemas en eje y densidades de 1000 a 1700 árboles/ha en sistemas en espaldera.

Reposo

En frutales caducifolios la latencia o descanso invernal es una adaptación para sobrevivir a temperaturas invernales extremas sincronizando su ciclo anual de desarrollo con el ambiente prevaleciente (rangos de temperatura), marcados cambios bioquímicos y fisiológicos reflejados en la formación de la yema terminal de los brotes. Este es un mecanismo de supervivencia a temperaturas favorables (fructificación y desarrollo de brotes) y temperatura desfavorables detención del crecimiento visible en los meristemos de la parte aérea. En la parte terminal de los brotes se presenta senescencia y suspensión de la iniciación foliar formación de estructuras protectoras de los meristemos almacenamiento de reservas en las yemas “maduración” desarrollo de la tolerancia a la desecación y resistencia al frío.

Desborre

Es cuando se manifiesta la renovación de la actividad vegetativa, se presenta en el mes de marzo, (Ramírez y Cepeda-Siller 1993).

A partir del desborre se originan procesos de desarrollo vegetativo, floración y fructificación, estos procesos están regulados por hormonas (auxinas, Citoquininas, giberelinas) generadas por la propia planta. Pueden producirse

trastornos, como inadecuado desborre cuando el invierno es excesivamente benigno y no se satisfacen las necesidades de frío (Coque *et al.*, 2012).

Brotación

Una vez cubiertas las necesidades de frío invernal, esta etapa inicia en el mes de marzo, cuando la planta encuentra un equilibrio vía factores externos para brotar sus yemas. Las fechas no coinciden para los distintos cultivares, latitudes y años.

El desarrollo de las flores concuerda con la aparición de las primeras hojas. Esto se debe a las sustancias de reserva, mediante sus funciones asimiladoras y transformadoras se realizan las primeras etapas de vida de las yemas durando hasta que el follaje haya alcanzado el suficiente desarrollo para satisfacer todas sus necesidades.

Floración

El periodo de floración se inicia con la apertura de yemas. En él se observan distintas fases (denominadas estados fenológicos), desde que comienza el hinchamiento de la yema de flor hasta la maduración del fruto. Su duración depende del cultivar y de la climatología. Las flores son grandes, abren unos días antes que las hojas. Son hermafroditas de color rosa pálido y a veces blanco y en número de 3 a 6 unidas. Las flores de manzano abren en los meses de abril y mayo, y están determinadas por características genéticas de cada cultivar. Barrios (1993), dice que la floración puede ser modificada por factores climáticos de cada región. Ramírez y Cepeda-Siller (1993), comentan que la floración se ve afectada por las bajas temperaturas de inviernos benignos y esto puede provocar que la cosecha se atrase o se adelante. Cuando concluye la floración comienzan a caer las flores no fecundadas y comienza el cuajado de la manzana; después caen las no cuajadas. Tras el cuajado se desarrollan con rapidez y el crecimiento se reduce su velocidad coincidiendo con la preformación de los botones florales para el siguiente año.

Amarre de fruto y desarrollo

El cuajado viene acompañado por el marchitamiento de los pétalos, desprendiendo las anteras y el cáliz, solo el 5 % de las flores “prenden” (Leza, 2008). El periodo de máxima vegetación empieza de mayo a septiembre, en el cual se presenta el desarrollo del fruto, así como la acumulación de reservas para el próximo ciclo (Ramírez H. y Cepeda-Siller M, 1993). Ramírez (2001), afirma que el objetivo del árbol es conservar la especie, por esta razón el árbol producirá abundantes frutos y desechara los que tengan pocas semillas, los frutos con muchas semillas atraen más metabolitos comparados con aquellos con pocas semillas, lo que originaría su abscisión.

Madurez de fruto

Proceso por el que el fruto evoluciona hasta un estado en el cual podrá llegar a ser aceptable para el consumo. Durante la maduración se producen ciertos cambios físicos, bioquímicos y fisiológicos en los frutos. Los cambios físicos incluyen disminución de consistencia, cambios de textura, disminución de clorofila e incremento de xantofilas y antocianinas. Los cambios químicos y fisiológicos internos incluyen una distribución de almidón, un incremento de azúcares, sólidos solubles y pectinas solubles, una disminución de acidez y, en algunos casos, una disminución de la actividad respiratoria. Las fases de crecimiento y desarrollo de los frutos dependen del genotipo, existe una relación entre la temperatura ambiente, la humedad relativa, la radiación y el estado hídrico de las plantas, con el desarrollo del fruto (Luckwill, 1976).

Cosecha

La cosecha inicia a finales de agosto y se alarga, en algunas regiones, hasta finales de septiembre. Para determinar el tiempo de cosecha existen diversos indicadores, tales como: firmeza, contenido de sólidos solubles, coloración de fruto, coloración café de la semilla y los días transcurridos desde la fecha de floración media hasta la madurez (Ramírez H. y Cepeda-Siller M.,1993).

La madurez del fruto para ser cosechado está determinada por su fisiología y por las exigencias del mercado (Barrios, 1993).

Importancia en México

En México la producción de manzana alcanza cerca de 3 mil mdp anuales y la superficie destinada a este cultivo es de 62 mil hectáreas, principalmente en el norte del país. El volumen de producción fue de 600 mil toneladas en 2011, sin embargo, en 2012 se observó una caída de 40% respecto al año anterior, alcanzando apenas las 375 mil toneladas, ya que en el norte del país predominó la sequía y esta se manifestó en una caída del rendimiento de 10 ton/ha a 6 ton/ha en los últimos diez años. Las mejores condiciones climáticas en 2013 incentivaron una producción récord, que de acuerdo con estimaciones de SAGARPA, fue de 867 mil toneladas y un rendimiento de 14.7 ton/ha.

El estado de Chihuahua es el mayor productor de manzana del país, entre los años 2009 y 2012 participó en promedio con 67.4% del volumen y 66.5% del valor generado. Durango, Coahuila y Puebla también son entidades importantes en el cultivo de la manzana y en conjunto generaron 25.4% del volumen y 26.5% del valor. La cosecha de manzana se realiza entre los meses de julio y noviembre, sin embargo, el 96% del volumen producido se concentra en: agosto, septiembre y octubre.

En México el consumo es de 800 mil toneladas anuales y las importaciones en los últimos 10 años han sido en promedio de 210 mil toneladas, entre el 21% y 30% del consumo. Se incrementaron en el 2012 las importaciones en un 19% respecto a 2011, pasando de 198 a 236 mil toneladas, esto como efecto del desabasto que se generó por la sequía, lo que se tradujo en un incremento en precios. En 2013, dada la producción récord, se supondría un mejoramiento del abasto nacional, sin embargo, las importaciones no disminuyeron sino que se incrementaron un 17% respecto a 2012, alcanzándose 275 mil toneladas, esto ocasiono que en el 2014 el mercado se encontrara saturado y los precios descendieran de forma significativa. Los productores se vieron imposibilitados

para colocar el volumen adicional de producción debido a la mayor importación y a la baja capacidad para refrigerar la fruta y evitar inundar el mercado.

Adaptación y comportamiento del manzano en México

El manzano es una especie frutal de clima templado (Luckwill y Child, 1973); sin embargo, ha sido introducido a regiones con climas subtropicales y tropicales en donde ha tenido problemas de adaptación, manifestando algunos síntomas como: crecimiento pobre, tardía e irregular brotación de yemas, pocos dardos, efecto negativo en el cuajado de fruta, abundante crecimiento vegetativo, retraso y prolongación de la floración, las yemas florales abren antes que las vegetativas, excesivo uso de reservas por la falta de hojas nuevas, poco desarrollo foliar y fruta más pequeña. La madurez del fruto es irregular y se ve afectado su comportamiento postcosecha al presentar una menor densidad celular en los tejidos (firmeza) incrementándose la susceptibilidad a desordenes fisiológicos durante el almacenaje en frío. Esto ha provocado que durante algunos ciclos el rendimiento potencial se reduzca hasta un 90%. Además del uso de agentes rompedores de reposo invernal o compensador de frío, que funcionan eficientemente, existen algunas prácticas culturales que permiten modificar el comportamiento del cultivo como el uso de microaspersión aérea. En las regiones de manzano en México (Chihuahua, Coahuila, Durango y Puebla) se observan la mayoría de los problemas anteriormente mencionados, por lo que frecuentemente se hace uso de sustancias químicas (estimuladores de la brotación) o se recurre a la selección de mutantes naturales que presentan un menor requerimiento de frío.

La producción de manzana en el Estado de Coahuila se concentra en el municipio de Arteaga, con una superficie de 7,025 hectáreas, la cosecha se caracteriza por ser de buena calidad, sabor y textura. En los últimos diez años la superficie sembrada de manzana ha disminuido debido a la introducción de la manzana importada principalmente de Estados Unidos, afectando a los eslabones que participan en ella, lo que deriva en la modificación de la

estructura productiva de la región manzanera. Lo anterior como resultado del tratado de libre comercio (TLC).

Los cultivares de manzano predominantes en la Sierra de Arteaga, son Golden Delicious y Red Delicious, las cuales fueron introducidas de EEUU y actualmente ocupan más de 7 mil ha, representando el 11% de la superficie de manzano del país (Ramírez, 2001). El cultivar Golden Delicious, requiere de 900 a 1200 UF para presentar una buena floración (Contreras de la Reé y Vázquez-Ramos, 2010). El frío, es un factor determinante para que los árboles rompan su letargo (Richardson *et al.* 1974); sin embargo, como resultado del cambio climático, en esta región frutícola sólo se acumulan en promedio entre de 350 a 500 UF durante la temporada invernal.

Este es el clima en las huertas de manzano de la Sierra de Arteaga y la mayoría de las regiones manzaneras del Norte de México, donde se presentan noches frías y días cálidos y soleados lo que ocasiona calentamiento en los árboles y un efecto negativo en el proceso de letargo.

Además de una brotación y floración deficiente, lo que causa una producción baja, si no se compensa la falta de UF con aceites vegetales o reguladores de crecimiento (Luckwill, 1976, Contreras de la Reé y Vázquez-Ramos, 2010). Para contrarrestar este problema los productores aplican algunos estimuladores de brotación como la citrolina, cianamidas y thidiazuron (TDZ). Sin embargo, los resultados de estas aplicaciones no siempre son favorables, ya que dependen de varios factores como cantidad de UF acumuladas al tiempo de las aplicaciones, tiempo y concentración de aplicación y efectos tóxicos que los estimuladores de brotación pueden inducir (Ramírez y Cepeda-Siller, 1993).

Otra alternativa es el uso de cultivares que requieren menor frío, estos resultan ser la opción más económica a mediano y largo plazo. Estos materiales genéticos, además de presentar buena adaptación al medio, ofrecen fruta de calidad y rendimiento competitivos para mejorar la producción y la rentabilidad de la huerta.

Se han detectado mutaciones del cultivar Golden Delicious en la sierra de Arteaga, Coahuila, las cuáles se caracterizan por presentar floración temprana,

mayor rendimiento, menor presencia de paño y mayor vida de anaquel (Ramírez y Cepeda-Siller 1993). A estos mutantes se les han dado nombres regionales relacionados con el lugar donde se identificaron o por alguna característica morfológica, así han surgido nombres como Vigas I, II, III, IV, Brotador, Verde, Primicia, entre otros (Contreras de la Reé y Vázquez-Ramos, 2010). Aunque estos materiales han sido considerados como mutantes alternos para el Golden Delicious, se requiere mayor conocimiento sobre ellos en el aspecto pomológico y fisiológico.

Mutaciones

Es un cambio repentino en un gen particular, y al individuo que manifiesta el cambio se le denomina mutante, es una variación brusca, discontinua, aleatoria y heredada.

Las mutaciones ocurren en los árboles frutales con frecuencia considerable y en un rango relativamente amplio, en algunos cultivares de manzano (*Malus domestica* Borkh.) los mutantes han reemplazado a los cultivares originales.

Los agentes mutagénicos inductores son la radiación cósmica (un complejo de radiaciones), temperaturas extremas y envejecimiento. Las yemas permanecen en reposo durante un largo periodo de tiempo, posteriormente se estimulan mediante una poda severa son susceptibles a sufrir mutagénesis espontánea. Dichas yemas pueden ser afectadas por los productos del metabolismo acumulados que han actuado como mutágenos (Moore y Janick, 1988).

Mutantes de Golden Delicious

Debido a las condiciones climáticas de inviernos benignos, la variedad Golden Delicious ha sido sometida a estrés por baja acumulación de frío generando mutantes genéticamente estables, los cuales muestran una adaptación natural al medio. A partir de observaciones de fruticultores locales, ha sido posible identificar varios mutantes de Golden Delicious los cuales no requieren tratamiento de compensadores de frío como sucede con la variedad original, estos han mostrado niveles aceptables de producción, calidad de la fruta y

estabilidad en su comportamiento, entre ellos se encuentran “Brotador”, “Aguanueva II”, “Paco” y “Tunal”; sin embargo, es necesario realizar más estudio sobre ellos y con esto, establecer posibilidades alternas para los productores de continuar cultivando el Golden Delicious con menos requerimiento de frío.

Giberelinas en manzano

Las giberelinas son hormonas de gran importancia en la fisiología del manzano. El crecimiento vegetativo a partir del inicio activo de este frutal en la primavera ha sido directamente relacionado con la presencia de las giberelinas biológicamente activas A₁, A₄ y A₇ (Rademacher, 2014, Yonemori *et al.*, 2014). Estas hormonas se localizan en brotes apicales, hojas jóvenes y en el torrente de xilema y floema (Luckwill, 1977, Oliveira y Browning, 1993, Ramírez *et al.*, 2004) y participan en el crecimiento y vigor de esos órganos, presumiblemente dirigiendo asimilados al tejido y estimulando una división y elongación celular (Ramírez *et al.*, 2014). El desarrollo del fruto y la formación de yemas florales en manzano han sido relacionados con la presencia de giberelinas en esos órganos (Chutinanthakun *et al.*, 2014, Rademacher, 2014). Existe evidencia que el rápido crecimiento del fruto después del cuajado es estimulado por la presencia de las giberelinas A₄ y A₇, las cuales son sintetizadas en la semillas del mismo (Ramírez *et al.*, 2001). Cuando existe un alto número de frutos en el árbol, estas hormonas son traslocadas fuera del fruto hacia la yema meristemática del dardo y, al ser de mayor contenido que la citoquininas en ese tejido, provocan que el mismo sea inhibido a ser floral para el siguiente ciclo biológico (Luckwill, 1976, Rademacher, 2000, Ramírez *et al.*, 2014). Por lo tanto, es importante considerar lo anterior para evitar alternancia en el frutal y mantener una producción más estable a través de la vida productiva del frutal.

MATERIALES Y METODOS

Frio invernal

Para realizar la presente investigación se estableció primeramente una estrategia consistente en revisar archivos de temperatura invernal de los últimos 12 años correspondientes a las zonas de Huachichil y Jamé, lugares en donde se han identificado mutantes de manzano. De esta manera se determinó el frío invernal acumulado y, así establecer un criterio relacionado con el efecto del cambio climático. Se revisaron archivos de temperaturas invernales de CNA, INIFAP Y UAAAN de los ejidos de Jamé y Huachichil localizados en el municipio de Arteaga Coahuila correspondientes al periodo Noviembre - Marzo de 2005-2017. Los datos de temperatura fueron transformados a unidades frio utilizando el modelo Utah (Richardson et al., 1974).

Área de estudio

El área de estudio se ubica en el municipio de Arteaga Coahuila, en las coordenadas 101° 50' longitud oeste y 25° 25' latitud norte, a una altura de 1,660 msnm. Su localización se ilustra en la figura 1.

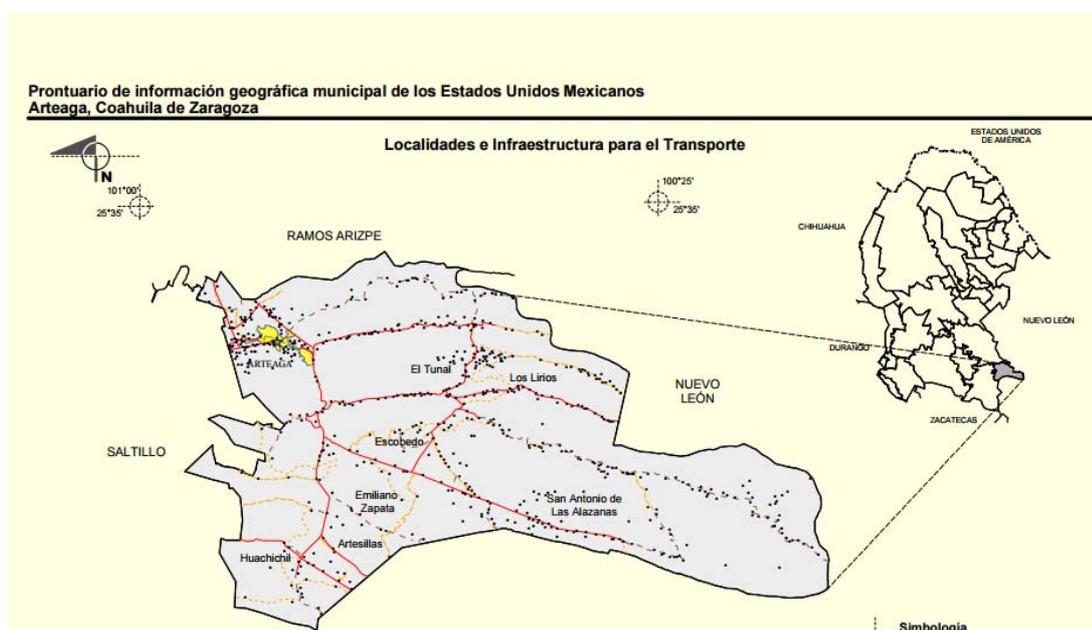


Figura 1. Localización del área de estudio en manzano en Arteaga, Coahuila.

Evaluación fenotípica de mutantes Golden Delicious

Con la autorización y apoyo del INIFAP Saltillo, se caracterizaron pomológicamente cuatro árboles de 10 años de edad representativos de cada uno de los mutantes de manzano Golden Delicious identificados con los nombres de: Brotador, Primicia, Tunal y Aguanueva II. Los árboles están establecidos en los Lirios, San Antonio de las Alazanas, Jamé y Huachichil en Arteaga Coahuila. La descripción fenológica de los frutos de mutantes en este estudio fue realizada con los criterios establecidos por el INIFAP, Saltillo Coahuila. Los parámetros pomológicos evaluados fueron: Requerimiento de frío invernal; para lo cual, se marcaron cuatro dardos en igual número de ramas en dos árboles de cada mutante y se determinó la acumulación de frío con el método Utah en los inviernos 2015 – 2017 entre la fases yema floral dormida y yema floral brotada. De esta manera se conoció el frío necesario para una brotación de yemas florales en cada mutante. Se estableció los días transcurridos entre plena floración y maduración del fruto para cada mutante; y, se complementó esta parte con determinación de número de semillas, grados brix, peso y firmeza en 10 frutos por árbol al momento de cosecha. El

rendimiento por árbol se determinó al momento de cosecha entre los arboles experimentales. El estudio se realizó bajo un diseño de bloques al azar con tres repeticiones

Contenido bromatológico en frutos de mutantes de manzano

El análisis bromatológico se realizó de acuerdo a la técnica reportada por Escobar-Saucedo *et al* (2015) en 10 frutos de los mutantes Brotador, Primicia, Tunal y Aguanueva II. Se determinó el contenido de humedad por el método 934-01 (AOAC 1984), azúcares totales por la técnica de antrona (Kurnerth y Youngs 1984), proteínas de acuerdo con el método 46?133, fibra cruda por el método 1-11, lípidos con la técnica 7-062, fósforo y sodio por el método 984.27, todos de la AOAC (1984). La unidad experimental utilizada fue de 100 g de fruto por repetición por mutante.

Análisis de giberelinas endógenas

Translocación

Con el propósito de conocer el movimiento que tiene una giberelina biológicamente activada desde su centro de síntesis hasta el tejido del dardo en donde podrá ejercer su acción fisiológica, se seleccionaron cuatro dardos con frutos de 10 semanas de desarrollo en árboles Golden Delicious y Aguanueva II. Los frutos sin ser removidos fueron cortados a la mitad bajo condiciones estrictas de sanidad para evitar cualquier contaminación. Luego, con una microjeringa fue inyectado en las semillas de cada fruto 10 µl de 50% de solución de etanol con 0.5 µCi de [³H]- AG₄, luego, la mitad separada del fruto fue nuevamente colocada en su lugar y sellada con cinta plástica, 48 horas después, cada dardo fue retirado del árbol y llevado al laboratorio bajo condiciones de humedad y temperatura controlada, fue dividido en semillas, hojas, yema meristemática y resto de tejido en dardo. Cada tejido fue preparado analíticamente con 80 % de metanol para determinar la radioactividad presente en cada tejido bajo la técnica de centelleo (Ramírez *et al.*, 2014). El procedimiento analítico se muestra en la figura 2. La radioactividad presente en

tejidos analizados se midió en un contador de centelleo de líquido automático LS150 y se calcularon valores de desintegración por minuto(DPM) con la referencia de una curva de calibración.

Ápices y semillas

En la primavera de 2015, se recolectaron por triplicado en cada árbol de cada mutante brotes de 10 cm de longitud del nuevo crecimiento y muestras de semillas (50 gramos de peso seco) de frutos con 10 semanas de desarrollo. Lo anterior se realizó en base a la experiencia establecida de que son las etapas cuando existe un alto contenido de giberelinas endógenas en esos tejidos (Hegele *et al.*, 2004, Ramírez, 2001). El cultivar Golden Delicious se utilizó como control de referencia. Los tejidos recolectados fueron puestos en nitrógeno líquido, trasladados al laboratorio, liofilizados y conservados en congelamiento a – 40 grados centígrados; posteriormente, fueron preparados para la extracción, purificación e identificación de giberelinas endógenas mediante la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GCMS) reportada por Gaskin y MacMillan (1978) y, adaptada por Ramírez *et al.*, (2014). Esta técnica se ilustra en el diagrama de flujo en la figura 3.

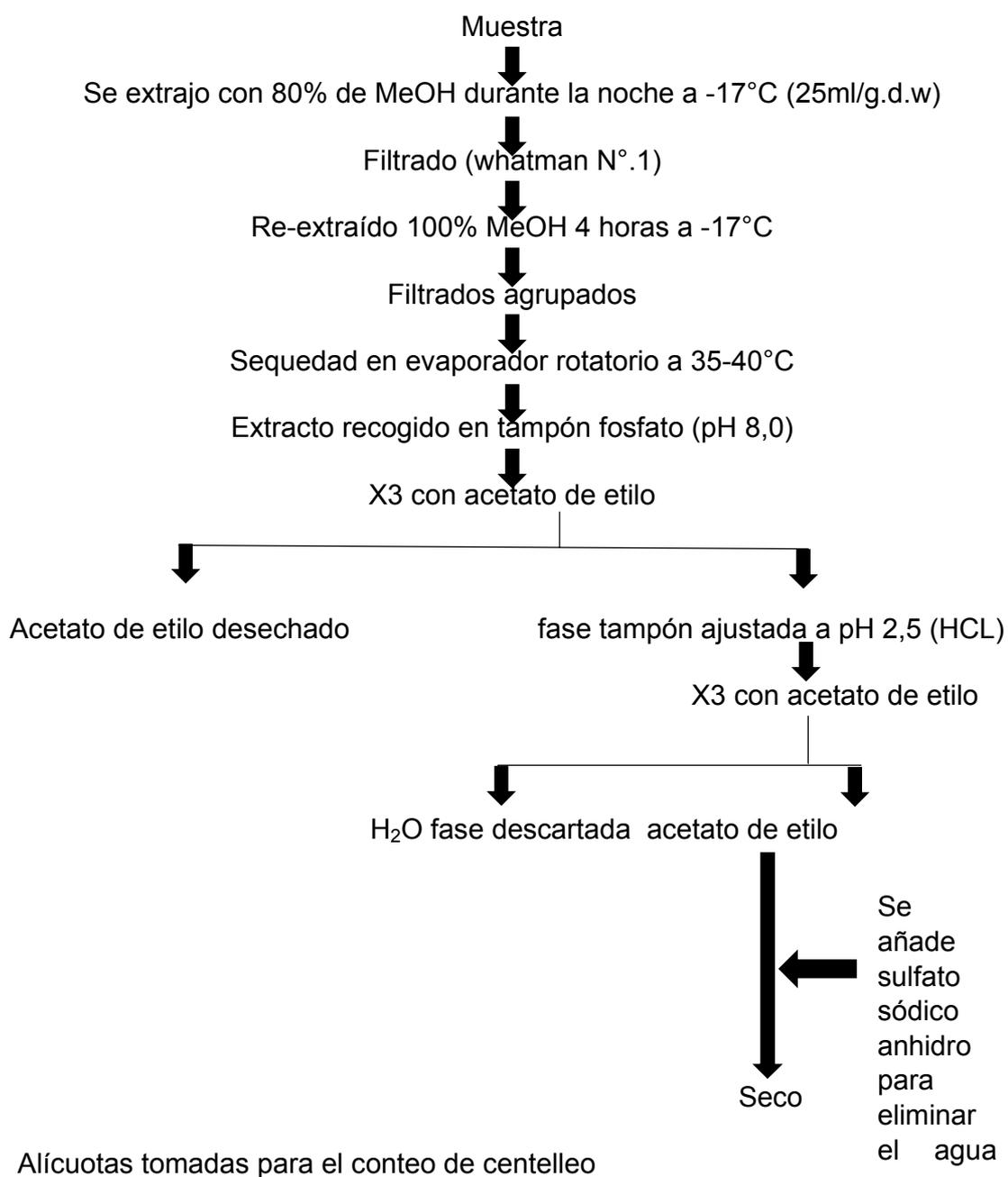


Figura 2. Diagrama de flujo para el procedimiento de extracción, purificación y medición de $[^3\text{H}] \text{AG}_4$ en semillas de manzano por centelleo.

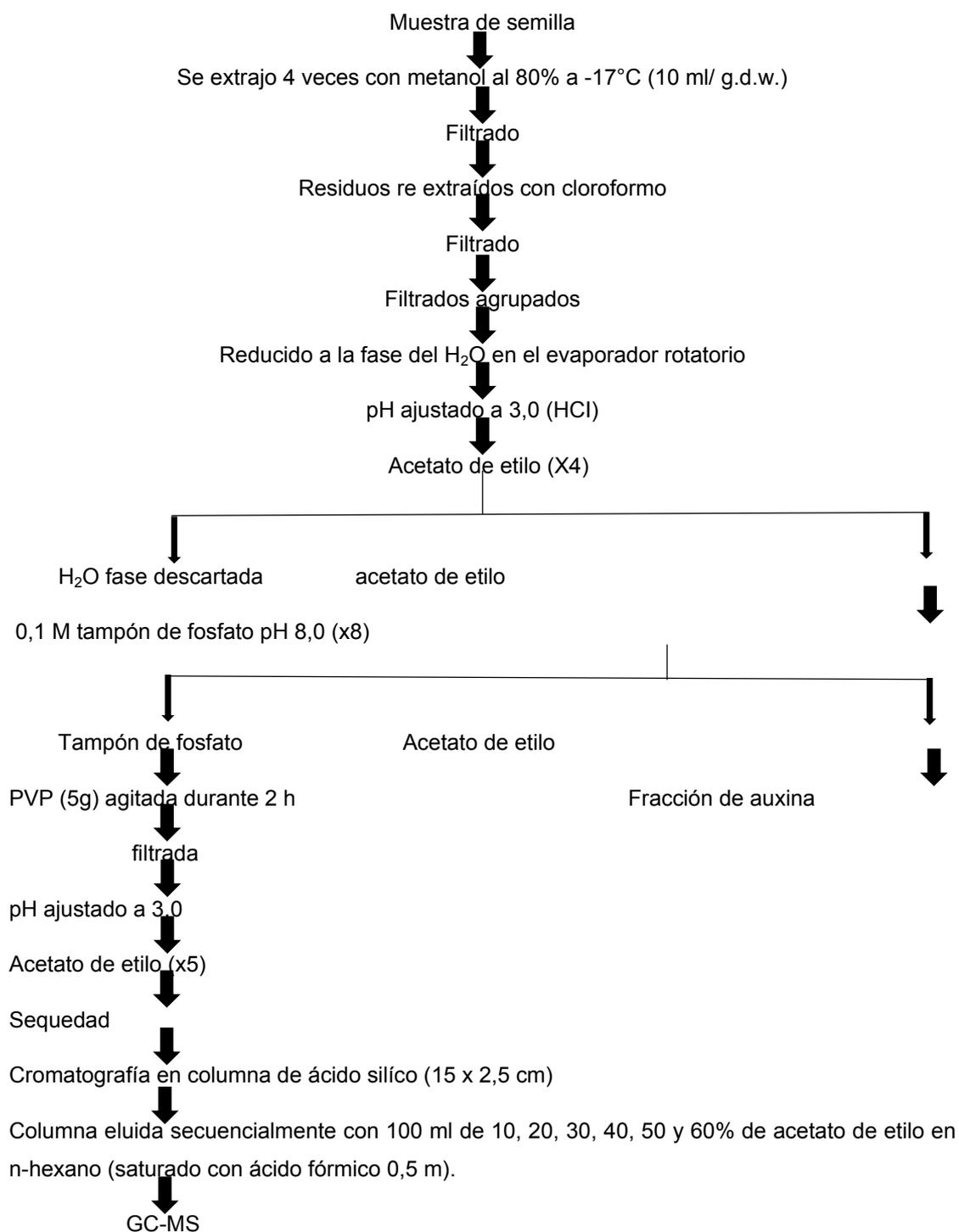


Figura 3. Diagrama de flujo para el procedimiento de extracción, purificación e identificación de giberelinas en ápices y semillas de manzano utilizando GC-MS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Inviernos deficientes

En la cuadro 2 se muestra la acumulación de unidades frío durante el invierno del periodo 2005 – 2017 en los ejidos Jamé y Huachichil en el municipio de Arteaga Coahuila. Los datos muestran claramente el efecto adverso del cambio climático en este factor ambiental. Se observa en términos generales una tendencia a menor acumulación de unidades frío en ambos lugares conforme avanzan los años. La media acumulada durante los 13 años cuantificados se puede ubicar en menos de 600 unidades frío en ambos lugares; siendo 2017 el año más deficiente con 437 en Jamé y 409 en Huachichil. Ha sido ampliamente estudiada en manzano y otras especies frutales de clima templado la importancia que tiene la acumulación de frío para asegurar una buena brotación de yemas florales y vegetativas durante la primavera (Richardson *et al.*, 1974). El cultivar normal Golden Delicious requiere más de 900 UF para tener una buena brotación de yemas y por ende mantener su ciclo biológico completo (Petri *et al.*, 2014); sin embargo, los datos obtenidos para Arteaga Coahuila (Cuadro 2), prácticamente hacen muy difícil el manejo de este cultivar al presentar una mala y extendida fase de brotación, caída de flores y frutos provocando menor rendimiento y mala calidad de frutos cosechados.

Cuadro2. Acumulación de unidades frío según el modelo Utah en las regiones de Jamé y Huachichil en Arteaga Coahuila, México.

Año ¹	Jamé	Huachichil
2005	734	670
2006	806	780
2007	776	685
2008	693	720
2009	792	684
2010	549	572
2011	559	583
2012	591	486
2013	602	573
2014	569	528
2015	569	519
2016	562	517

Caracterización del fenotipo

El cultivar Golden Delicious (Figura 4) es un árbol que presenta un vigor medio, con facilidad para ramificar. Los ángulos de inserción de la rama son bastante abiertos. La fructificación es tipo III. Es compatible con los portainjertos enanos (M-2, M-7, M-9, M-25 y M-26) y con los semienanos MM-106 y MM-111. Sus requerimientos de frío van desde 900 a 1200 unidades frío. El fruto varía de un color verde-amarillo-dorado. El pedúnculo es largo o muy largo y firme. Presenta lenticelas muy marcadas, de color pardo, rugosas, que en situaciones favorables están envueltas por un muy característico russeting lenticelar. Los frutos de calibre mediano a grande, en general superiores a 75 mm. Presentan pulpa de textura fina, jugosa, de color blanco, dulce, ligeramente acidulado y aromático. El número de frutos en promedio por árbol es de 257. La floración es abundante sobre lamburadas situadas sobre madera de dos años y sobre brindillas coronadas del año anterior y en algunos años produce también sobre yemas axilares situadas sobre madera del año anterior además que los frutos de mejor calidad se producen sobre las brindillas coronadas. La época de floración es mediana. Se comporta como un excelente polinizador para la mayoría de las variedades comerciales. Golden Delicious es un cultivar que tiene un buen comportamiento en frigorífero y atmósfera controlada; conservación, que permite mantener sus características de calidad durante 4 a 12 meses después de la cosecha.

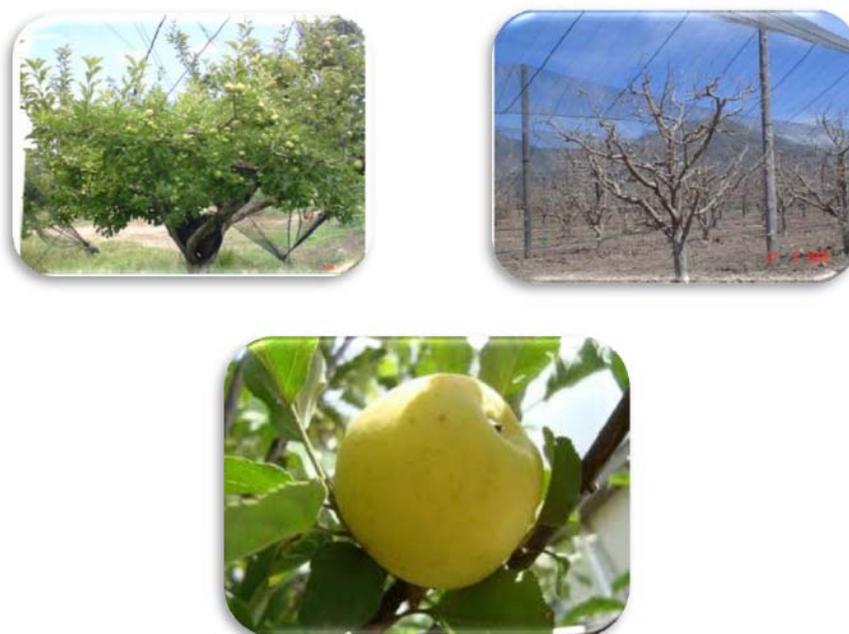


Figura 4. Árbol y fruto del cultivar Golden Delicious, Arteaga, Coahuila

Mutante Aguanueva II

Es un árbol que requiere de 400 a 500 unidades frío para una buena brotación y floración. Acepta adecuadamente el portainjerto MM-106 (Figura 5). El crecimiento es vigoroso debido a que la brotación se presenta aproximadamente con un mes de anterioridad en relación al cv. Golden Delicious. La tendencia del fruto es hacia una forma casi esférica y presenta de igual a mejor calidad que Golden Delicious. En el manzano Aguanueva II hay autoincompatibilidad gametofítica, lo que hace más productiva y con una calidad de fruta igual que Golden Normal. La formación de sus yemas florales se observa en madera de uno y dos años. La iniciación floral ocurre un mes más temprano, mostrando un adelanto durante todo el proceso de diferenciación floral y por tanto una cosecha temprana. Las buenas características de firmeza que presenta el fruto de Aguanueva II lo hacen

atractivo, representando posibilidades de mayor periodo de almacén en frigorífico que el cv. Golden Delicious.



Figura5. Árbol y fruto del mutante Aguanueva II, en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila.

Mutante “Brotador”

Requiere para su óptimo desarrollo una altitud de 2,300 msnm. Se recomiendan los portainjertos MM-106 y MM-109 (Figura 6) en densidades mínimas de 650 árboles/hectárea, condiciones atmosféricas que le permitan acumular de 530 a 550 horas frío para lograr un buen rendimiento potencial promedio de 31.5 kg por árbol. El fruto producido es de tamaño mediano a grande, la forma del fruto es redondocónico, con piel blanca amarillenta al madurar, presenta un leve paño o russet peduncular. La longitud del pedúnculo es de mediano a largo. El fruto maduro tiene un sabor dulce, similar a Golden Delicious. La pulpa es de coloración blanca-cremosa, suave a poco áspera, jugosa, firme y crujiente. La plena floración del mutante “Brotador” se ha registrado de finales de marzo a principios de abril, requiere polinizadores diploides compatibles, la variedad Manchurian ha resultado eficiente para polinizarlo. Su comportamiento en

almacén es bueno, similar a Golden Delicious, es de maduración temprana. Presenta un buen comportamiento en almacén frío.



Figura6. Árbol y fruto del mutante Golden Brotador, San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila

Mutante “Tunal”

Se estima que posee un requerimiento de frío de 400 a 450 unidades frío (Figura 7). El rendimiento potencial promedio se estima en 28.3 Kg. Por árbol. Se ha observado susceptibilidad a cenicilla polvorienta y no se han detectado desordenes fisiológicos.

Es compatible con los portainjertos MM-106 y MM-109 en densidades mínimas de 650 árboles/ha., en un sistema de conducción de líder central. El fruto es de tamaño mediano a grande, el diámetro ecuatorial y peso promedio observados durante 2007 a 2009 fue de 74.2 mm y 188.5 g, respectivamente; de categoría 100-113 (manzanas por caja de 18.6 kg), la forma del fruto es cónica redondeada, con piel lisa, brillante, delgada, amarilla claro al madurar, presenta menos paño peduncular y menos lenticelas que “Brotador” y “Paco”; la longitud del pedúnculo es mediano. El sabor de la fruta es dulce, la pulpa es firme,

jugosa, blanca-cremosa. La etapa de plena floración se ha presentado la primera decena de marzo. La maduración del fruto del mutante “Tunal” se ha registrado la última semana de julio. El periodo de plena floración a cosecha promedio es de 130 a 135 días. Dada su precocidad en floración se recomienda utilizar materiales polinizadores tempranos como Galas, Celia y otros mutantes. El rendimiento potencial promedio se estima en 28.3 kg por árbol.



Figura7. Árbol y fruto del mutante Golden Tunal en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila.

Mutante “PRIMICIA” (Paco)

Se estima un requerimiento de frío de 530 a 545 unidades frío (Figura 8). El rendimiento potencial promedio se estima en 28.6 Kg. /árbol. Se ha observado susceptibilidad a cenicilla polvorienta y no se han detectado desordenes fisiológicos. Es altamente compatible con los portainjertos MM-106 y MM-109 en densidades mínimas de 650 árboles/ha, en un sistema de conducción de líder central. Produce un fruto de tamaño mediano a grande, la forma del fruto

es redondo-cónico, con piel lisa y de coloración blanca amarillenta al madurar, con un rubor rosado, presenta menos paño o russet pedicular y más lenticelas que "Brotador". La longitud del pedúnculo es de mediano a largo. Al madurar el fruto tiene un sabor poco más dulce que "Brotador". La pulpa es blanca-cremosa, jugosa y crujiente. La etapa de plena floración se ha presentado muy similar a "Brotador" (finales de marzo a principios de abril). El periodo de plena floración a cosecha promedio es de 135 a 139 días. La maduración del fruto del mutante "Paco" se ha registrado los primeros diez días de agosto.

Se recomienda aplicar calcio foliar para asegurar la calidad del fruto poscosecha, principalmente si la producción se va a almacenar por más de tres meses para reducir el riesgo a bitterpit.



Figura 8. Árbol y fruto del mutante Golden Primicia (Paco) en San Antonio de las Alazanas, Arteaga, Coahuila.

El fenotipo que presentan los mutantes del cultivar Golden Delicious (Figuras 5-8), muestran claramente que estos materiales son de características muy similares al Golden Delicious normal (Figura 4) y por lo tanto, se consideran como una buena alternativa para substituir a este; por lo que se presenta una gran oportunidad para los productores de la región de Arteaga Coahuila. De esta manera, se podrán tener manzanos de bajo frío con alta calidad (Ramírez, 2001, Petri *et al.*, 2014). Inclusive, se podrían considerar otros frutales caducifolios para la región; aunque para ello se tendrían que realizar los estudios correspondientes (Logan *et al.*, 1990).

Características pomológicas

En el cuadro 3 se presenta la caracterización de los mutantes de Golden Delicious. Se observan algunas diferencias entre los mutantes con respecto al control. En requerimientos de unidades frío, Golden Delicious requiere 950 UF, mientras que los mutantes Aguanueva II, Brotador, Primicia y Tunal

necesitan 480, 545, 540 y 400 UF respectivamente. En número de semillas el mutante Aguanueva II presentó mayor número con un promedio de 7.40 y mientras que el control Golden Delicious presentó 5.25. Los mutantes Primicia y Tunal alcanzaron un promedio de 135 días entre floración y maduración; mientras que el control, presentó 142 días. Brotador fue el que presentó durante la maduración el mayor contenido de azúcares con 14.5° Brix y Primicia fue el que presentó menor nivel con 14.1° Brix. Aguanueva II presentó mayor peso en fruto con 203.7 g en comparación con el testigo que solo presentó 184.3 g. Con relación a la firmeza del fruto, Aguanueva II mostró la mayor con 8.1 kg con respecto al testigo que mostró 7.4 kg. El rendimiento mayor por planta también fue notorio en Aguanueva II con 28 kg en comparación con el testigo y resto de los mutantes estudiados.

Los mutantes de manzano bajo el presente estudio mostraron requerir menos frío que el Golden Delicious normal (Cuadro 3). Este resultado es muy significativo para la región de Arteaga Coahuila pues abre las posibilidades de establecer esos mutantes y de esta manera ofrecer una alternativa para los productores de continuar cultivando ese frutal con una selección de mutantes en las condiciones de inviernos en el rango de 400-600 unidades frío como se ha observado en otras partes del mundo (Logan *et al*, 1990, Petriet *et al.*, 2014). Los parámetros complementarios como número de semillas, días a maduración, peso y firmeza del fruto varían según el ciclo; sin embargo, en términos generales presentan cercanía con el Golden Delicious normal. Lo anterior es explicable considerando su dendograma genético reportado por Escobar-Saucedo *et al* (2015) en donde se muestra la similitud genética con el ADN entre el Golden Delicious y los mutantes emergidos del mismo.

Cuadro3. Caracterización pomológica de mutantes de manzano 'Golden Delicious'.

Mutantes	Unidades frio ¹	Número de semillas	Floración cosecha (Dias)	°Brix en cosecha	Peso medio del fruto (g)	Firmeza en la cosecha (kg/cm ²)	Rendimie nto (Kg /árbol)
'Golden Delicious' (control)	950	5.25	142	14.2	184.3	7.4	19
'Aguanueva II'	480	7.40	138	14.3	203.7	8.1	28
'Brotador'	545	6.30	137	14.5	198.3	7.6	23
'Primicia'	540	5.90	135	14.1	189.6	7.5	24
'Tunal'	400	5.80	135	14.4	187.5	7.6	22

¹ Modelo Utah (Richardson et al., 1974)

Contenido bromatológico en frutos

En el cuadro 4 se muestra la caracterización bromatológica de los frutos de los mutantes de manzano y el control Golden Delicious. Se observaron diferencias en algunas variables bromatológicas de los diferentes mutantes con respecto al control. El contenido de humedad en frutos de Golden Delicious fue mayor que en los mutantes Brotador y Primicia, El contenido de proteínas y lípidos no mostraron mayores diferencias entre los materiales estudiados. El contenido de fibra cruda del control sólo fue mayor que el contenido del mutante Aguanueva II. Por otra parte, los frutos del mutante Brotador presentaron menor contenido de azúcares (6.25 g), mientras que los frutos de Aguanueva II presentaron el menor contenido de fibra (4.91 g). Los componentes bromatológicos también son dependientes del ciclo vegetativo según sean las condiciones climatológicas (Rademacher, 2000) al igual como se observó en el comportamiento pomológico de todos los mutantes y el GD normal (Cuadro 3); considerando que la base genética del Golden Delicious normal se conserva entre ellos (Escobar-Saucedo *et al.*, 2015).

Cuadro4. Componentes de la calidad de la fruta en mutantes de manzano 'Golden Delicious'

Parámetros	'Golden Delicious'	Aguanueva II	Mutantes	
			Brotador	Primicia
Humedad (%)	84.93±0.67 ^a	83.96±0.72 ^{ab}	82.18±1.17 ^b	82.82±0.53 ^b
Proteínas (g)	0.22±0.00 ^b	0.29±0.13 ^{ab}	0.36±0.25 ^a	0.22±0.00 ^b
Lípidos (g)	0.10±0.00 ^a	0.10±0.00 ^a	0.10±0.00 ^a	0.10±0.00 ^a
Azúcares (g)	8.66±0.84 ^{ab}	10.73±1.97 ^a	6.25±1.76 ^b	9.91±1.57 ^{ab}
Fibracrua (g)	9.40±0.17 ^a	4.91±1.33 ^b	8.34±0.72 ^a	7.99±2.10 ^{ab}
Sodio (mg)	0.54±0.13 ^a	0.43±0.11 ^a	0.38±0.10 ^a	0.31±0.11 ^a
Fosforo (mg)	0.15±0.10 ^a	0.11±0.06 ^a	0.09±0.02 ^a	0.10±0.02 ^a

Valores basados en 100g

Giberelinas endógenas

Translocación de giberelinas endógenas

El cuadro 5 muestra la radioactividad en diferentes tejidos del dardo en Golden Delicious y Aguanueva II. Lo anterior es el reflejo del desplazamiento que tuvo [³H]- AG₄ después de ser inyectada a las semillas del fruto en desarrollo. Es evidente en ambos, GD y Aguanueva II que la mayor cantidad de radiación se concentró en el tejido de la yema meristemática. Esta ubicación de la giberelina 4 es muy significativa pues demuestra que esa hormona biológicamente activa al ser sintetizada en las semillas de la fruta es translocada en mayor concentración a esa yema, condición que definirá en su momento una inhibición o estimulación de formación de yema floral para el siguiente ciclo (Bangerth, 2008, Ramírez *et al*, 2014); además de estimular en ese y otros tejidos un crecimiento vegetativo como resultado de una división y elongación celular (Bangerth, 2006). La capacidad de translocación y ubicación de la giberelina 4 que muestra Aguanueva II es muy similar a GD normal. Esto, permite concluir que el mutante se comporta de manera similar al GD y por lo tanto será un

material valioso a considerar como alternativa para la región de Arteaga Coahuila.

Cuadro5. Radioactividad en dardos de manzano 48 horas después de inyectar 0.5 μ Ci de [3 H]- AG₄ a semillas de frutos.

	dpm/100 mg peso seco \pm error std		
Cultivar	Hojas	Yema	Tejido Remanente
Golden Delicious	3061 \pm 812	12090 \pm 1026	5392 \pm 897
Aguanueva II	2914 \pm 403	10348 \pm 1720	4617 \pm 593
	n.s	n.s	n.s

P=0.05

Identificación de giberelinas en ápice y semillas

En el cuadro 6 se muestran las giberelinas identificadas con la cromatografía de gases y espectrometría de masas presentes en los mutantes estudiados. En los ápices, las giberelinas biológicamente activas A₄ y A₇ (Ramírez *et al.*, 2014) se encuentran presentes en todos los mutantes; así como en el control GD. La AG₁ ocurrió en los mutantes Aguanueva II y Primicia. Otras giberelinas reportadas como inactivas (Rademacher, 2000) y de menor importancia en la fisiología de yemas en dardos (Hoad, 1978) aparecen en forma inconsistente en el GD y algunos de los mutantes. En las semillas inmaduras, las giberelinas A₄ y A₇ fueron identificadas en el control y en todos los mutantes; AG₁ solo se detectó en Golden Delicious y Aguanueva II. Otras giberelinas biológicamente inactivas como las A₉, A₁₂, A₁₅, A₁₇, A₂₀, A₄₄ y A₅₃ (Bangerth, 2006) fueron identificadas en el GD y algunos mutantes. En la figura 9 se muestra el espectro de masas para las giberelinas A₁(a), A₄(b), 15- β OH-A₄(c), A₇(d), 15- β OH-A₇(e), A₉(f), A₁₂(g), A₁₅(h), A₁₇(i), A₂₀(j), A₄₄(k) y A₅₃(l); también se observa el peso molecular de cada giberelina y el número de iones perdidos. La figura 10 ilustra la fórmula de cada giberelina en donde se observa el número de hidroxilos para cada molécula. Las giberelinas A₄ y A₇ son biorreguladores que están directamente relacionados con el crecimiento vegetativo y de frutos en manzano

y otros frutales (Chutinanthakun *et al.*, 2014, Hegele *et al.*, 2004, Rademacher, 2014, Yonemori *et al.*, 2014). La capacidad que tiene el dardo de manzano para formar o inhibir la formación de flores está bien documentada sobre el posible rol que juegan las giberelinas A₄ y A₇ (Luckwill, 1976; Ramírez, 2001). Estas dos hormonas cuando contienen mayor contenido que las citoquininas, provocan que ese tejido se estimule a ser vegetativo (Costa *et al.*, 2006); sin embargo, cuando su contenido es inverso, la estimulación floral ocurre (Oliveira y Browning, 1993, Ramírez *et al.*, 2014). Las giberelinas A₄ y A₇ estuvieron consistentemente presentes en ápices y semillas en el control Golden Delicious y los mutantes estudiados (Cuadro 6; y, Figuras 9 y 10). Lo anterior, permite considerar que los mutantes conservan la fisiología hormonal del Golden Delicious normal. Aunque la giberelina A₁ estuvo presente en el GD y los mutantes Aguanueva II y Primicia, la misma parece no tener un rol definitivo en los procesos referidos (Luckwill y Child, 1973, Rademacher, 2014). Es probable que cuando las giberelinas A₄ y A₇ no alcanzan los niveles adecuados para causar su efecto fisiológico, la AG₁ es sintetizada y provoca el efecto descrito (Ramírez *et al.*, 2014). Se ha demostrado que la actividad biológica de las giberelinas A₁, A₄ y A₇ en gran parte se debe a su movilidad en la planta como resultado de tener mayor número de hidroxilos en sus respectivas moléculas (Rademacher, 2014, Ramírez *et al.*, 2014). Las giberelinas A₉(f), A₁₂(g), A₁₅(h), A₁₇(i), A₂₀(j), A₄₄(k) y A₅₃(l) presentadas en las figuras 9 y 10 no han sido reportadas como biológicamente activas (Gaskin y MacMillan, 1978, Rademacher, 2014). Lo anterior, probablemente debido a su inmovilidad como resultado de su nulo o mínimo número de radicales hidroxilos en su molécula (Bangerth, 2008, Ramírez, 2001). Es probable que estas giberelinas tengan otro rol fisiológico (Gaskin y MacMillan, 1978).

Con los resultados de este estudio se puede considerar a los mutantes como una alternativa viable para la región de Arteaga Coahuila. El establecimiento de los mutantes: Brotador, Primicia, Aguanueva II y Tunal compensarían las características fenotípicas y pomológicas de Golden Delicious normal y su valor agregado de menos frío invernal y una mayor producción que Golden Delicious.

Cuadro6. Giberelinas en el ápice y tejido de semilla de fruta en mutantes de manzano ‘Golden Delicious’

Giberelinas ¹										
Mutantes	A ₁	A ₄	A ₇	A ₉	A ₁₂	A ₁₅	A ₁₇	A ₂₀	A ₄₄	A ₅₃
Ápices										
‘Golden Delicious’ (control)		•	•	•				•		
‘Aguanueva II’	•	•	•							
‘Brotador’		•	•		•					
‘Primicia’	•	•	•	•						
‘Tunal’		•	•		•					
Semillas										
‘Golden Delicious’ (control)	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•
‘Aguanueva II’	•	•	•	•	•		•		•	
‘Brotador’		•	•	•	•			•		
‘Primicia’		•	•	•		•		•		•
‘Tunal’		•	•		•		•			

¹ Media de tres repeticiones.

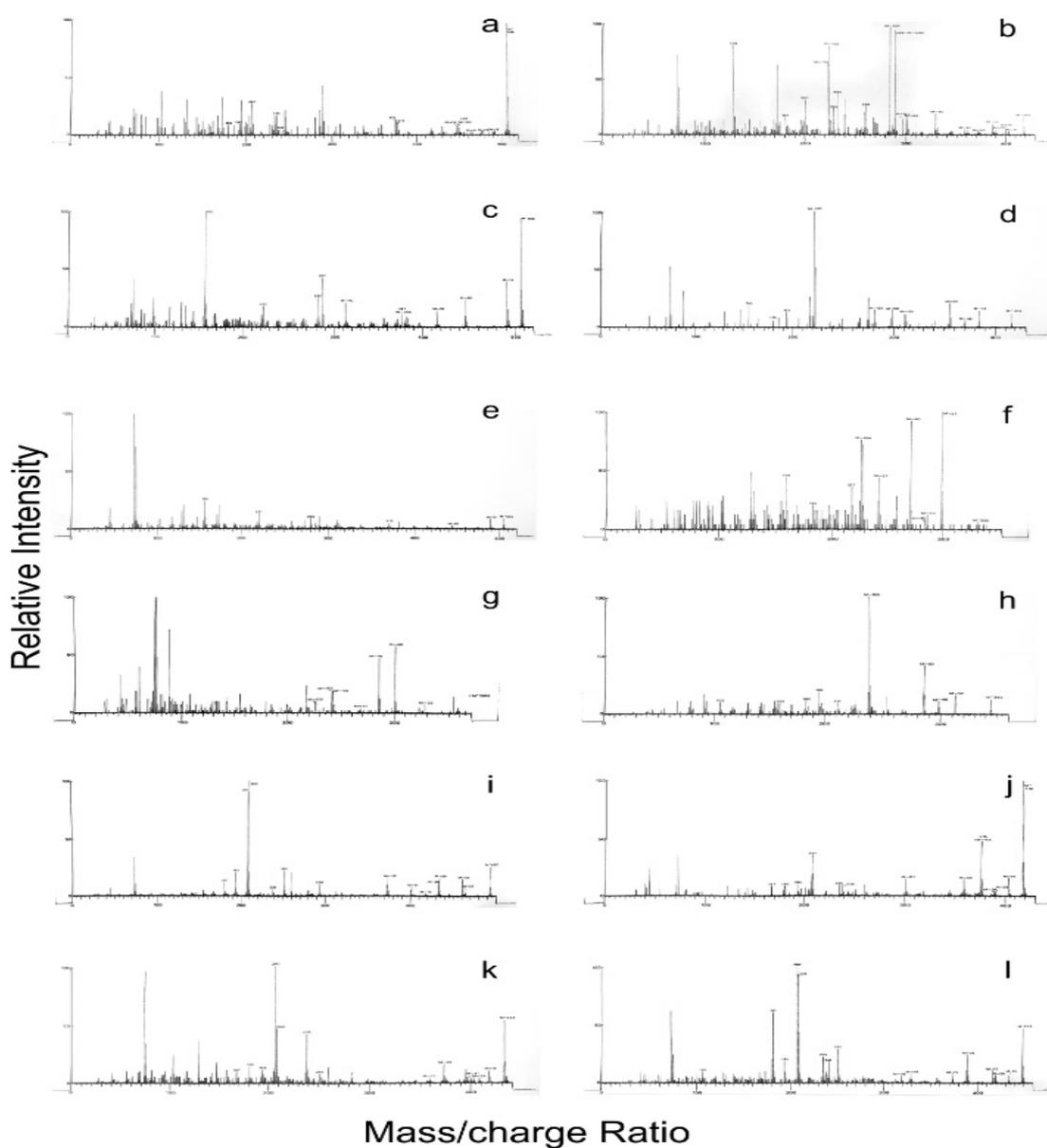


Figura 9. Espectro de masas para las giberelinas: A₁(a), A₄(b), 15-β OH-A₄(c), A₇(d), 15-βOH-A₇(e), A₉(f), A₁₂(g), A₁₅(h), A₁₇(i), A₂₀(j), A₄₄(k), A₅₃(l), identificadas en mutantes de manzano Golden Delicious.

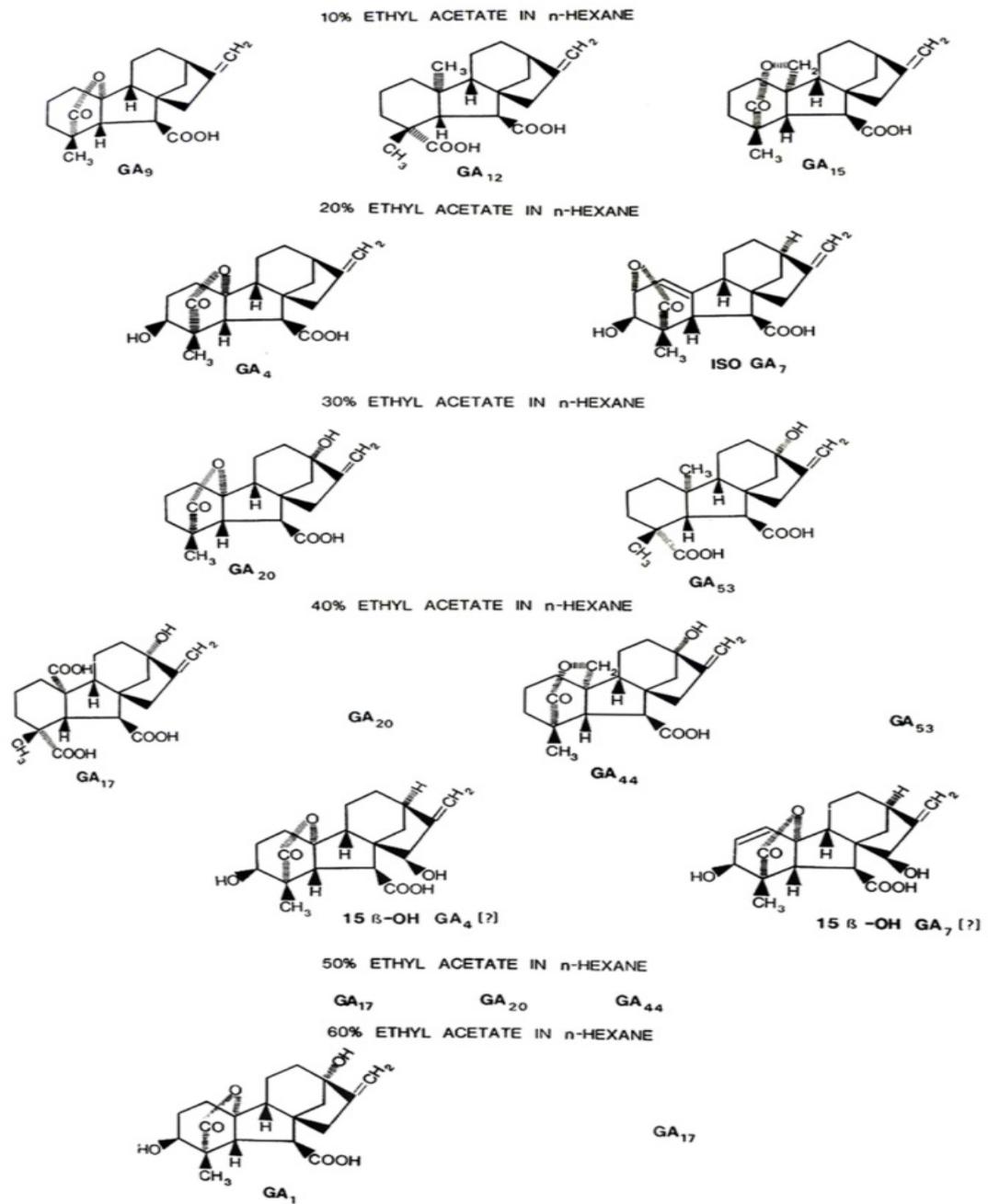


Figura 10. Fórmula de giberelinas identificadas en el ápice y en semillas de mutantes de manzano Golden Delicious.

CONCLUSIONES

En base a los resultados y bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio, se establecen las siguientes conclusiones:

- Los mutantes de manzana: Aguanueva II, Primicia, Brotador y Tunalse comportan pomológicamente como el Golden Delicious normal.
- Las giberelinas en las semillas y el ápice no alteran el fenotipo del GD normal.
- Las giberelinas A₄ y A₇ están consistentemente presentes en los mutantes de manzana.

REFERENCIAS

- Álvarez, R., (2001). "Estudio histológico de la floración del manzano". Consejería de Agricultura Castilla León. Madrid, España. pp. 200.
- AOAC (1984). Fruits and fruit products. Official Methods of Analysis. 14 th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. U.S.A pp: 391- 393.
- Ayala, M, Gómez, N, Hidalgo, N. y Valdever, R. (2000). Efecto de la luz y del ácido giberélico sobre la germinación in vitro de jaul (*Alnus acuminata* L). Agronomía Costarricense 24(1):75-80.
- Bangerth, K.F. (2006). Flower induction in perennial trees: still an enigma? Acta Hort. 727, 177-196. Disponible en línea.
- Bangerth, K.F. (2008). Nature and significance of correlative hormonal signals in growth and development of annual and perennial plants. Acta Hort. 774, 379-390. Disponible en línea.
- Barrios, B.L. (1993). Estimulación de las unidades calor requeridas en la fenología de Manzano (*Mallus pumilla* Mill) cvs. Golden Delicious y Starkjrimson, bajo condiciones de Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. p.p. 52-60.
- Botta, E, Almaguer, I, Franco, E y Díaz, Y. (2012). Evaluación de la acción de diferentes fitorreguladores sobre las poblaciones de *Steneotarsonemus pinki* Smiley endos variedades comerciales de arroz. Fitosanidad, 12 (2): 109-116.
- Contreras de la Reé, F.J., y Vázquez –Ramos, J.A. (2010). Cultivares y Mutantes de Manzana Para el Sureste de Coahuila. Boletín Técnico 14. INIFAP. Saltillo, México, pp.22.
- Costa, G, Andreotti, C., Spinelli, F y Rademacher, W. (2006). Prohexadione-ca: more than a growth regulator for pome fruit trees. Acta Hort. 727, 107-116. Disponible en línea.
- Coque, F.M. (2012). El cultivo del manzano variedades de sidra y mesa. Madrid. p.p. 222.
- Chutinantakun, T., Maninang, J.S., Sugaya, S., Sekozawa, Y., y Gemma, H. (2014). Tree jointing and branch bending influence endogenous levels of hormones and flowering in japanese plum 'Kiyo'. Acta Hort. 1042, 57-63. Disponible en línea.

- Escobar-Saucedo, M.A., Cruz-Requena, M., Flores-Chavez, H., Reyes-López, A., Aguilar-González, C., y Rodríguez-Herrera, R. (2015). Análisis genético y bromatológico de mutantes de manzano del cultivar 'Golden Delicious'. *Ecosistemas y Rec. Nat.* 2(6), 269-276.
- Gaskin, P., y MacMillan, J. (1978). GC and GCMS Techniques for Gibberellins. In, *Isolation of Plant Growth Hormones*, J.R. Hillman, ed. (Cambridge University Press), p.79-95.
- Hegele, M, Naphrom, D, Bangerth, K.F, Manochai, P, Chattrakul, A., y Sruamsiri, P. (2004). Effect of leaf age on the responses of flower induction and related hormonal changes in Longan trees after KClO₃ treatment. *Acta Hort.* 653, 41-49. Disponible en línea.
- Hoad, G.V. (1978). The role of seed derived hormones in the control of flowering in apple. *Acta Hort.* 80, 93-103. Disponible en línea.
- Kunerth, W.H. y Youngs, V.L. (1984) Modification of the anthrone, carbazole, and orcinol reactions for quantitation of monosaccharides. *Cereal Chemistry* 61:344- 349.
- Leza, P.C. (2008). Caracterización Fenológica de 10 Selecciones de Manzano en el Ejido Los Lirios, Arteaga, Coahuila. Tesis de Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. p.p. 24, 47, 55.
- Logan, J., Dennis, E. y Lockwood, D.W. 1990. Using hour risks a Chill unit/growing degree model to assess spring freeze for 'Redhaven' peach trees. *HortScience* 25(11):1382-1384.
- Luckwill, L.C., y Child, R.D. (1973). The meadow orchard, a new concept of apple production based on growth regulators. *Acta Hort.* 34,213-300. Disponible en línea.
- Luckwill, L. C. (1976). Growth regulation in top fruit. *Outlook on Agric.* 9(2): 46-51.
- Luckwill, L.C. (1977). The meadow orchard: a new concept of apple production based on growth regulators. *Acta Hort.* 34:213-300.
- Moore, J.N. y Janick, J. (1988). *Metodos Genotécnicos en Frutales*. AGT Editors, S.A. p.p. 99-130.
- Oliveira, C.M., y Browning, H. (1993). Gibberellins structure-activity effects on flower initiation in mature trees and on shoot growth in mature and juvenile *Prunus avium*. *Plant Growth Reg.* 13, 55-63.

- Petri, J.L., Leite, G.B., Couto, M., Gabardo, G.C., y Haverroth, F.J. (2014). Chemical induction of budbreak, generation products to replace hydrogen cyanamide. *Acta Hort.* 1042,159-166. Disponible en línea.
- Rademacher, W. (2000). Growth retardants, effects on gibberellins biosynthesis and other metabolic pathways. *Ann. Rev. Plant Physiol, and Mol. Biol.* 51,501-531.
- Rademacher, W. (2014). Prohexadione-ca and trinexapac-ethyl, similarities in structure but differences in biological action. *Acta Hort.*1042, 33-42. Disponible en línea.
- Ramírez, H. (2001). Physiology of blooming of a low chilling requirement 'Golden Delicious' apple mutant. *Acta Hort.* 565, 87-90 . Disponible en línea.
- Ramirez, H., Benavides, A., y Rangel, E.A. (2004). Identification of gibberellins in seeds of 'GoldenDelicious' apple mutant. *Acta Hort.* 653,201-206. Disponible en línea.
- Ramírez, H. y Cepeda-Siller, M. (1993). *El manzano*. Ed. Trilla. México, D.F. p.p.72.
- Ramírez, H, Sánchez-Canseco, C, Ramírez-Pérez, J. y Benavides, A. (2014). Significance of hormones on flower bud initiation and fruit quality in apple, our expertise. *Acta Hort.* 1042, 73-77. Disponible en línea.
- Richardson, E.A, Seeley, S.D. y Walker, D.R. (1974). A model for estimating the completion of rest for 'Redhaven' and 'Elberta' peach trees. *HortScience* 9:331-32.
- Sagarpa (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación), 2015. Monografía de cultivos "Manzano" Subsecretaría de fomento a los agronegocios.
- Yonemori, K., Nishiyama, S., Yapwattanaphun, C., and Ueda, J. (2014). Identification of plant hormones in endosperm liquid of mangosteen fruits at young development stages. *Acta Hort.* 1042,89-95. Disponible en línea.
- Yokota, T. yTakahashi, N. (1986). Chemistry, physiology and agricultural application of brassinolide and related steroids. In: *Plant growth substances*.M. Bopp Ed. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg.330 pp.