

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



Prohexadiona de Calcio en el Contenido Endógeno Giberélico en
Ápices de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y Chile Pimiento
(*Capsicum annuum* L.)

POR:

YARIS HARUMI MÉNDEZ QUIROA

TESIS

Presentada como requisito parcial para
obtención del título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Buena Vista Saltillo Coahuila México
Diciembre de 2005
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

Prohexadiona de Calcio en el Contenido Endógeno Giberélico en Ápices de
Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y Chile Pimiento (*Capsicum annuum* L.)

TESIS

Presentada Por:

YARIS HARUMI MÉNDEZ QUIROA

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial
para obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Dr. Homero Ramírez Rodríguez
Presidente

M.C. Humberto Macías Hernández
Sinodal

Ing. Alfredo Fernández Gaytan
Sinodal

Ing. José Ángel De la Cruz Bretón
Sinodal

M.C. Arnoldo Oyervides García
Coordinador de la División de Agronomía

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Diciembre de 2005

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, gracias por permitirme vivir y porque estar conmigo siempre.

A mi **ALMA TERRA MATER** por formarme profesionalmente, y por todo el apoyo que siempre me brindo.

Al **Dr, Homero Ramírez Rodríguez** por aportar su tiempo, conocimiento y todo su apoyo para la realización de esta investigación.

Al **M.C. Humberto Macías Hernández** por su colaboración para la realización del presente trabajo.

Al **Ing. Alfredo Fernández Gaytan**, por su participación en el presente trabajo.

Al **Ing. José Ángel de la Cruz Bretón** por su valiosa colaboración en la revisión de este trabajo.

Al **Consejo Estatal de la Ciencia y Tecnología**, por brindarme su apoyo económico para la realización de esta investigación.

A la **Generación Cien de Horticultura**, gracias por su amistad.

A **mis amigos**: José, Conchita, Lolis, Cecilia y Magdalena, gracias por apoyarme, cada uno sabe cuanto los quiero.

A todas aquellas personas que me brindaron su apoyo durante mi estancia en la universidad, a todas las que me han tendido siempre la mano, muchas gracias.

DEDICATORIA

A mi Madre:

Martha Ecricelia Quiroa Ávila

Por ser una mujer muy fuerte y valiente, por todo el esfuerzo que has hecho por mi y todo lo que me has dado: TE QUIERO MUCHO.

A mis hermanos:

Moisés y Caled

Porque ustedes son mis dos amores, son mi razón para crecer.

A mis abuelos:

Floralma Ávila Orellana

Bernardo Quiroa Mazariegos

Por que me han dado todo su amor, sus consejos, su tiempo, su dedicación y su apoyo, son mi ejemplo a seguir, muchas gracias y los quiero mucho, Dios los bendiga.

A mi familia

Gracias a todos por su apoyo, sus consejos y su amor.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Generalidades del cultivo de tomate.....	4
Origen.....	4
Clasificación botánica.....	4
Morfología.....	5
Requerimientos climatológicos.....	5
Temperatura.....	5
Luminosidad.....	6
Humedad relativa.....	6
Requerimientos climatológicos.....	6
Suelo.....	7
PH.....	7

Generalidades del cultivo de chile.....	7
Origen.....	7
Clasificación botánica.....	8
Morfología.....	8
Requerimientos climatológicos.....	9
Temperatura.....	9
Luminosidad.....	9
Humedad relativa.....	10
Requerimientos edafológicos.....	10
Suelo.....	10
PH.....	11
Retardantes del crecimiento en las plantas.....	11
Prohexadiona de calcio.....	12
Modo de acción.....	13
Metabolismo.....	13
Prohexadiona de calcio en el contenido hormonal de plantas.....	13
MATERIALES Y METODOS.....	15
Localización.....	15
Establecimiento del experimento.....	15
Siembra.....	15
Descripción de los tratamientos.....	16
Muestreos.....	16
Determinación de giberelinas.....	16
Liofilización de muestras.....	16
Análisis hormonal.....	17
Diseño experimental.....	19
RESULTADOS.....	20

DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIONES.....	27
LITERATURA CITADA.....	28
APÉNDICE.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Efecto de Prohexadiona de Calcio en el contenido endógeno de giberelinas en ápices de tomate a diferentes días después de la aplicación.....	23
---	----

Figura 2. Efecto de Prohexadiona de Calcio en el contenido endógeno de giberelinas en ápices de chile a diferentes días después de la aplicación.....23

RESUMEN

Las hortalizas juegan un papel importante en la economía de México. De los doce productos hortícolas principales, en tomate se cosechan 2.14 millones de toneladas y de chile 1.85 millones de toneladas (FAO, 2004). Se ha buscado tener plantas de menor altura y más compactas (Rojas y Ramírez, 1999). Los

retardantes de crecimiento de las plantas retrasan la división y prolongación celular en tejidos de brotes, regulando de esta forma la altura de las plantas, de manera fisiológica, sin provocar malformaciones en las hojas o los tallos (Weaver, 1996). Prohexadiona de calcio (calcio 3-óxido-4-propionil-5-oxo-3-ciclohexano-carboxilato) es un inhibidor de la biosíntesis de giberelinas sin toxicidad y persistencia limitada (Evans, 1999). En el presente experimento se determinó el contenido de giberelinas en ápices de tomate y chile al aplicar Prohexadiona-ca. El experimento se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Se sembraron semillas de chile pimiento var. Capistrand y tomate saladette var. Río Grande, ambas en charolas de poliestireno de 200 cavidades cada una, utilizando Peat moss como sustrato. Se usaron cuatro tratamientos a dosis de 0(testigo), 125, 175 y 200 ppm de Prohexadiona-Ca. Las plantas fueron muestreadas a los días 0, 1, 3 y 6 después de la aplicación de los tratamientos. Las muestras se mantuvieron congeladas hasta el momento de su liofilización para su posterior análisis hormonal, además de someterlas a cromatografía de gases y espectrometría de masas. Para analizar los resultados estadísticamente se utilizó un diseño completamente al azar con 4 tratamientos y 3 repeticiones. Los resultados indicaron que todas las aplicaciones de prohexadiona de calcio disminuyeron los niveles de giberelinas activas, pero los niveles más bajos de giberelinas se presentaron ante la aplicación de 200 ppm de P-Ca, disminuyendo

notablemente el contenido endógeno de giberelinas tanto en los ápices de tomate como de chile. En cuanto a los resultados de los análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masas, en ápices de tomate tratados con prohexadiona de calcio se identificó AG₂₀, mientras en el testigo se presentaron AG₁, AG₄ y AG₇. En los ápices de chile tratados con prohexadiona de calcio se identificaron AG₂₀ y AG₅₃, y en el testigo se encontraron AG₁, AG₄ y AG₇.

INTRODUCCIÓN

Las hortalizas juegan un papel importante en la economía de México, ya que se siembran 512 000 hectáreas de las que se obtienen 8 millones de toneladas. Las exportaciones de estas, tienen su destino principal en Estados Unidos y Canadá. Debido a la diversidad de microclimas y tipos de suelos que se tienen en nuestro país favorables para producir hortalizas, es posible obtener estos productos durante todo el año, como lo son el tomate y chile, productos de mayor consumo a nivel nacional al igual que en otros países. De los doce productos hortícolas principales, en tomate se cosechan 2.14 millones de toneladas y de chile 1.85 millones de toneladas (FAO, 2004).

Para el 2003 la superficie cultivada de tomate fue de 50 684.55 hectáreas, con un rendimiento promedio de 31.01 toneladas por hectárea, siendo los principales productores los estados de Sinaloa, Michoacán, Baja California Sur y Sonora. Mientras para el chile pimiento la superficie cultivada fue de 1 414 hectáreas con un rendimiento de 38.86 toneladas por hectárea. Los productores sobresalientes de chile pimiento son Sinaloa, Baja California, Coahuila, Michoacán, Yucatán y Puebla (SIACON, 2004).

Debido a la importancia de estas hortalizas es necesario generar continuamente nuevas formas de manejo de los cultivos para eficientar los rendimientos y ofrecer calidad en los productos. En la actualidad las hormonas vegetales 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, 2003).

Se ha buscado tener plantas de menor altura y más compactas, lo que permite sembrar o plantar con mayor densidad y menor acame (Rojas y Ramírez, 1999).

Los retardantes de crecimiento de las plantas retrasan la división y prolongación celular en tejidos de brotes, regulando de esta forma la altura de las plantas, de manera fisiológica, sin provocar malformaciones en las hojas o los tallos (Weaver, 1996).

En tomate se han utilizado productos como Daminozida y Cloromequat con acción en la inhibición de la biosíntesis de giberelinas otorgando un porte bajo a las plantas (Rojas, 1999). Sin embargo, Owens (1999) menciona que estos productos además del paclobutrazol tienen la desventaja de prolongar su persistencia en las plantas, tienen propiedades toxicológicas y su uso es preocupante.

Prohexadiona de calcio (calcio 3-óxido-4-propionil-5-oxo-3-cicloexano-carboxilato) es un inhibidor de la biosíntesis de giberelinas sin toxicidad y persistencia limitada

(Evans, 1999). Ya que el crecimiento de las plantas tratadas con retardantes del crecimiento no se suprime por completo (Weaver, 1996).

Al aplicar diferentes dosis de P-Ca en tomate se redujeron los niveles de giberelinas en meristemas apicales. En estos tejidos se identificaron las giberelinas A_{12} y A_{20} , así como zeatina (Peralta, 2004).

Este retardante de crecimiento podría representar una interesante herramienta complementaria para las prácticas culturales y el material genético usado para conseguir y mantener un equilibrio vegetativo-reproductivo (Costa, 1999).

Debido a que Prohexadiona de calcio es un inhibidor de la síntesis de giberelinas, se pretende estudiar lo siguiente:

Objetivo

Determinar el contenido de giberelinas en ápices de tomate y chile pimiento al aplicar Prohexadiona-ca.

Hipótesis

Al aplicar Prohexadiona de calcio en plantas de tomate y chile pimiento se inhibe la actividad giberélica.

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades del cultivo de Tomate

Origen

El tomate es una hortaliza nativa de América Tropical, cuyo origen se localiza en Sudamérica, concretamente en la región de los Andes donde se encuentra la mayor variabilidad genética y abundancia de tipos silvestres. Posteriormente fue trasladado de un lugar a otro por los diferentes pobladores extendiéndose así por todo el continente (Rodríguez et al., 1997).

Clasificación botánica

Reino.....Vegetal
División.....Tracheophyta
Subdivisión.....Pterosidae
Clase.....Angiospermae
Subclase.....Personatae
Familia.....Solanaceae
Género.....*Lycopersicon*

Especie.....*esculentum*

Morfología

Planta perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual. Puede desarrollarse de forma rastrera, semirrecta o erecta. Existen variedades de crecimiento limitado (determinadas) y de crecimiento ilimitado (indeterminadas) (Castellanos y Muñoz, 2003). Consta de una raíz principal, raíces secundarias y raíces adventicias. Tiene un tallo principal sobre el que se van desarrollando hojas, tallos secundarios e inflorescencias. Sus hojas son compuestas e imparipinadas, con folíolos peciolados, lobulados y con borde dentado, en número de 7 a 9 y recubiertos de pelos glandulares. Es una planta hermafrodita que presenta flores bisexuales en forma de racimo simple, en la base de la planta o ramificado en la parte superior de la planta. En cultivares de crecimiento indeterminado, la aparición de hojas tras la primera inflorescencia es cada 3 hojas (Picken et al., 1986), mientras que en los cultivares de crecimiento determinado, cada inflorescencia se alterna con 1 ó 2 hojas (Nisen et al., 1990). Su fruto es una baya bi o plurilocular que puede alcanzar un peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 gramos.

Requerimientos climatológicos

Temperatura

En tomate, la temperatura influye en la distribución de asimilados. Durante la fase de crecimiento vegetativo una temperatura mayor a 25°C favorece el crecimiento foliar a expensas del ápice, mientras que a una temperatura menor de 15°C ocurre lo contrario. La temperatura ideal para su desarrollo fluctúa entre los 22 a 30°C, para floración es de 21°C. cuando se presentan altas temperaturas, mayores a 38°C antes de la antesis, hay poco amarre de fruto y si las temperaturas prevalecen de uno a tres días posterior a la antesis el embrión es destruido (Valadez, 1994).

Luminosidad

El tomate requiere entre 8 y 16 horas de iluminación, poca iluminación reduce la fotosíntesis neta, e implica mayor competencia por los productos asimilados, con incidencia en el desarrollo y producción (Nuez, 1995).

Humedad relativa

La humedad relativa óptima oscila entre un 70 y 80%. Valores superiores al 90% favorece el desarrollo de enfermedades aéreas, el agrietamiento del fruto y dificultan la fecundación. Una humedad relativa baja dificulta la fijación del polen al estigma de la flor.

Requerimientos edafológicos

Suelo

Para un buen desarrollo del cultivo se requiere que el suelo sea profundo, permeable, esponjoso y con abundancia de materia orgánica. El tomate se desarrolla bien en suelos livianos (arenosos) y en suelos pesados (arcillosos), siendo los mejores los arenosos y limo arenosos con buen drenaje (Valadez, 1998).

PH

Es tolerante a la acidez, con valores de 5 a 6.8. Se clasifica como medianamente tolerante a la salinidad, teniendo valores máximos de 6 400 ppm (Valadez, 1998).

Generalidades del cultivo de Chile

Origen

El género *Capsicum* es originario de América del Sur, de los Andes y de la cuenca del Amazonas, Perú, Argentina y Brasil (Vavilov, 1951). El cultivo de chile se aclimato en México, donde actualmente existe la mayor diversidad de chiles,

posteriormente se introdujo en Europa en el siglo XV, y su cultivo se extendió rápidamente a países de Asia y África siendo ampliamente cultivados en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo.

Clasificación botánica

Reino.....Vegetal

División.....Tracheophyta

Subdivisión.....Pterospidae

Clase.....Angiospermae

Subclase.....Dicotyledonae

Orden.....Solanaceales

Familia.....Solanaceae

Género.....*Capsicum*

Especie..... *annuum*

(Janick, 1965)

Morfología

El pimiento es una planta anual bajo cultivo, perenne en estado silvestre. El sistema de raíces es muy ramificado y veloso. La raíz primaria es corta y bastante ramificada. Algunas raíces llegan a profundidades de 70 hasta 120 cm de diámetro alrededor de la planta. La mayor parte de las raíces está situada a una profundidad de 5 a 40 cm en el suelo (Pérez, 1997). Sus tallos son erectos, ramificados, semileñosos, de una altura de 50 a 150 cm . tiene hojas oblongas,

lanceoladas o un poco anchas, terminadas en punta, que se van adelgazando en la base para formar un pecíolo más o menos alargado. Sus flores son blancas, solitarias, localizadas en la inserción de las hojas, axilares y terminales, y que forman frutos de formas variadas, de pared un poco carnosa, primeramente verdes, volviéndose rojos, amarillos o violeta oscuro al madurar, y que contienen semillas blancas, aplanadas, de una duración germinativa de 4 años (Vilmorín, 1977).

Requerimientos climatológicos

Temperatura

Los pimientos se producen mejor en un clima relativamente caluroso, en el que la temporada de crecimiento es larga y donde existe poco peligro de heladas. La planta no desarrolla a temperaturas menores de 15°C. Aun cuando el pimiento busca temperaturas tibias, una superior a 32°C provoca la caída de las flores y una temperatura media superior a 27°C causa malformaciones del fruto. Las temperaturas superiores a 35°C bloquean el proceso de fructificación (Vilmorín, 1977). La temperatura óptima para la producción de chiles dulces está comprendida entre los 18 y 22°C (Serrano, 1978).

Luminosidad

Se considera una planta de día corto. La influencia en la intensidad de la luz prolonga el ciclo vegetativo del cultivo (Guenko, 1983). La falta de luz provoca un alargamiento de los entrenudos y de los tallos, que quedarán débiles y no podrán soportar el peso de una cosecha. Requiere de muy buena luminosidad, especialmente en la floración, ya que esta se ve reducida y las flores son más débiles en situaciones de escasa luminosidad (Zapata, 1992).

Humedad relativa

El pimiento tiene requerimientos del 50 al 70%, especialmente durante la floración y cuajado del fruto (Zapata, 1992). Las humedades relativas altas favorecen el desarrollo de enfermedades y dificultan la fecundación, sin embargo favorecen el desarrollo del fruto en tamaño; mientras que menor humedad relativa puede provocar excesiva transpiración.

Requerimientos edafológicos

Suelo

El pimiento es una planta mas exigente que el tomate, prefiere suelos de estructura grumosa, areno limosa o limosa, ricos en humus, bien aireados y sobre

todo bien drenados, ya que el exceso de humedad genera fácilmente la asfixia radicular.

PH

El pH óptimo para el cultivo se sitúa entre 6.5 y 7, aunque puede resistir ciertas condiciones de acidez (hasta un pH de 5.5). Es sensible a la salinidad del suelo soportando contenidos de 2560 a 6 400 ppm (4 a 10 mmhos) (Valadez, 1996).

Retardantes del crecimiento en las plantas

Los retardantes de crecimiento de las plantas retrasan la división y prolongación celular en tejidos de brotes, regulando de esta forma la altura de las plantas, de manera fisiológica, sin provocar malformaciones en las hojas o los tallos. El crecimiento de las plantas no se suprime por completo, ni se ven afectados el índice de desarrollo orgánico ni su vigor. Los efectos de estos compuestos sobre las plantas (inhibición del crecimiento de los tallos) actúan como antigiberelinas. En cuanto se dispuso de retardadores del crecimiento para aplicación experimental, se iniciaron muchos estudios a fin de evaluar su acción fisiológica y encontrarles aplicaciones agrícolas (Weaver, 1996).

El daminozida se ha usado para obtener plantas de menor altura y mas compactas pero hay que dar aplicaciones repetidas y esto provoca caída de flores por lo que se ha abandonado la práctica. En cambio, se ha tenido éxito con clomequat; en una breve revisión asienta que este fitorregulador determina plantas de porte bajo y compacto, resistentes al estrés tanto del transplante como de la sequía y alcance (Rojas y Ramírez, 1999).

La utilización de retardantes de crecimiento favorecen el cuajado de frutos, debido a que inhiben la síntesis de giberelinas. Los retardantes se deben aplicar a las hojas; en ellas se produce un retraso en el crecimiento de las otras partes de la planta y de esta forma quedan asimilados para ser utilizados por las flores (Pilatti, 1997).

Prohexadiona de calcio

BAS 125 (nombre comercial Apogee) es el código experimental para el regulador del crecimiento de plantas Prohexadiona de calcio (calcio 3-oxido-4-propionil-5-oxo-3-ciclohexano-carboxilato). Recientemente ha sido introducido para su uso en árboles frutales, entre los efectos causados por este componente están un menor crecimiento de brotes y una reducción de incidencias de enfermedades y plagas (Rademacher, 2005). Por su efecto y carencia de persistencia, Prohexadiona-Ca puede ser una flexible herramienta en el desarrollo de estrategias para el manejo del crecimiento (Evans et al., 1999). Este retardante de crecimiento podría

representar una interesante herramienta complementaria para las prácticas culturales y el material genético usado para conseguir y mantener un equilibrio vegetativo-reproductivo (Costa, 1999).

Modo de acción

Prohexadiona-Ca inhibe la biosíntesis de giberelinas, de este modo actúa reduciendo el crecimiento longitudinal de brotes. El primer objetivo de Prohexadiona-Ca parece ser 3 β -hidroxilación. Como consecuencia, su aplicación reduce niveles de AG₁ (altamente activa) y causa acumulación de su inmediato precursor AG₂₀ (Evans et al., 1999).

Metabolismo

Prohexadiona-Ca se degrada en las plantas en un promedio de vida de pocas semanas. En el suelo, se descompone principalmente en dióxido de carbono, con un promedio de vida menor de 7 días. En el agua, se degrada por fotólisis a dióxido de carbono y otros productos naturales. En mamíferos, es rápidamente absorbida y excretada.

Prohexadiona de calcio en el contenido hormonal de plantas

En un estudio realizado en manzano, al aplicar Prohexadiona de calcio en brotes a 250 mg/L, los niveles de giberelinas y auxinas disminuyeron después de la aplicación, en estos brotes se identificaron giberelinas A₉, A₂₀, A₅₁ y A₅₃, mientras en el testigo se identificaron giberelinas A₁, A₄ y A₇ (Ramírez, 2005).

En otro experimento realizado en tomate, en ápices tratados con Prohexadiona-Ca se identificaron giberelinas A₁₂ y A₂₀, esto muestra que el retardante provoca el bloqueo de la síntesis de giberelinas A₁, A₄ y A₇ (Peralta, 2004).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Con coordenadas de 25° 23' latitud Norte y 101° 103' longitud Oeste, a una altura de 1743 msnm.

Establecimiento del experimento

Siembra

Se sembraron semillas de chile pimiento var. Capistrand y tomate saladette var. Río Grande, ambas en charolas de poliestireno de 200 cavidades cada una, utilizando Peat moss como sustrato. La siembra se realizó el 20 de junio del 2005. El material de germinación se situó en el invernadero no. 1 del Departamento de Fitomejoramiento.

Descripción de los tratamientos

Se usaron cuatro tratamientos a dosis de 0(testigo), 125, 175 y 200 ppm de Prohexadiona-Ca. Los tratamientos se aplicaron mediante aspersion el día 25 de junio cuando las plántulas tenían entre 5 y 6 hojas verdaderas.

Muestreos

Las plantas fueron muestreadas a los días 0, 1, 3 y 6 después de la aplicación de los tratamientos.

En cada muestreo se cosecharon cinco ápices de ambas hortalizas por cada tratamiento. Las muestras fueron envueltas en papel aluminio, selladas y perfectamente identificadas, fueron puestas en hielo y transportadas al Laboratorio de Horticultura para la liofilización de muestras antes de su análisis hormonal.

Determinación de giberelinas

Liofilización de muestras

Las muestras se mantuvieron congeladas hasta el momento de su liofilización, esto consiste en la extracción de humedad de los ápices mediante frío.

Análisis hormonal

Se utilizó una muestra consistente en un gramo de peso seco; se colocó en un matraz Erlen Meyer al cual se le agregaron 50 ml de metanol (80%). Las muestras obtenidas se conservaron durante 24 horas en congelación. Posteriormente se filtraron en papel Wathman 1 a temperatura de 24°C. Esta actividad se repitió con el filtrado en dos ocasiones con igual cantidad de metanol (100%) cada cuatro horas a la misma temperatura, los tres filtrados integrados en un matraz bola de 250 ml fueron evaporados a temperatura de 50 °C para separar la muestra del metanol utilizando un equipo de evaporación rotativa con baño maría. Enseguida se procedió a la purificación de las muestras a través de la separación de impurezas, empleando cápsulas de Sep Pack C18 para separación rápida de hormonas a base de sílica gel. Lo anterior se realizó utilizando la técnica reportada por Ramírez et al. (2001). Enseguida, las muestras se sometieron a cromatografía de capa fina (CCF) utilizando sílica gel GF254, y como solventes separadores isopropanol-amoniaco-agua (10:1:1)(v:v:v) durante cuatro horas, a temperatura de 20°C. Al terminar este tiempo, las giberelinas en los Rf de cada muestra, fueron separadas y acondicionadas para su medición analítica (Stephan, et al., 1998). Cada muestra purificada fue metilada con diazometano y el contenido de giberelinas fue analizado al inyectarse 0.1 ml de la solución a un cromatógrafo líquido de alta precisión Modelo Finnigan TSQ 7000 equipado con nitrógeno como gas y una columna Ultrasep Es 100 RP-18 de 1 m de largo por 0.43 mm de diámetro interno y empacada con acetonitrilo: agua conteniendo 0.2 % de ácido acético en proporción 50:50 (v:v) con un flujo de 70 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. La giberelina A4/7 fue

utilizada como referencia analítica durante el programa de corridas por determinación cuantitativa de las giberelinas presentes en el tejido estudiado a través de la generación de la curva de calibración correspondiente utilizando concentraciones de 1, 10 y 100 ng de AG4/7 diluidos en acetona-metanol (50:50) (v:v).

Las muestras con mayor contenido de giberelinas fueron preparadas para identificar el tipo de giberelinas presentes, utilizando la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas. Un gramo de peso seco de la muestra referida fue disuelta en 0.1 ml de acetona (98%)-metanol (98%) en la proporción 50:50 (v:v) y metilado con diazometano. Una proporción del extracto metilado fue disuelto en 0.1 ml de piridina y tratado con 0.1 ml de trimetil clorosilano y hexametildisilazano. Alícuotas fueron examinadas con un separador de membrana de silicón Pye 104 CLC acoplado a un espectrómetro de masa AEI MS30. En este equipo se instalaron columnas de vidrio salinizadas (213 x 0.2 cm) con 2% de Se-33, en 88-100 de gas chorm Q. La proporción de flujo fue de 25 ml-min⁻¹ y la temperatura de la columna fue programada entre 180 a 280 °C a 2 °C min⁻¹. La espectrometría de masas fue determinada a 24 eV en una fuente de temperatura de 190°C y una velocidad de búsqueda de 6.5 s por década de masas. El espectro fue registrado por una computadora Dec Lin 8. La identificación fue conducida por la comparación del Índice Retención Kovats (KRI) y el espectro de espectrometría de masas de sus metil ester trimetilsilil éter con sus derivados de las muestras originales.

Diseño experimental

En el presente experimento se utilizó un diseño completamente al azar con 4 tratamientos y 3 repeticiones.

RESULTADOS

Después de haber analizado estadísticamente los resultados del contenido de giberelinas endógenas en ápices de tomate y chile pimiento, se observa que los tratamientos con prohexadiona de calcio redujeron sus niveles de giberelinas en comparación al testigo.

Para los ápices de tomate del primer muestreo, realizado inmediatamente después de la aplicación del tratamiento, no se encontró diferencia significativa entre tratamientos, sin embargo el testigo presentó el nivel más alto de giberelinas siendo de 41.333 ng AG_{4/7} / gps, mientras que los ápices tratados con 200 ppm de P-ca presentaron un valor de 39.333 ng AG_{4/7} / gps (Cuadro 2 del Apéndice). Los tratamientos presentaron diferencia altamente significativa en el muestreo del primer día después de la aplicación de prohexadiona de calcio, donde los niveles de giberelinas en los ápices tratados con P-Ca fueron menores en comparación al testigo, el nivel más bajo de giberelinas se presentó al aplicar 200 ppm de P-Ca, seguido de 175 ppm de P-Ca, 125 ppm de P-Ca y por último el testigo, cuyos valores fueron de 41.333, 44, 46.333 y 49 ng AG_{4/7} / gps respectivamente (Cuadro 4 del Apéndice). El muestreo del día 3 muestra diferencia altamente significativa en los niveles de giberelinas de cada tratamiento, nuevamente los ápices con aplicaciones de prohexadiona de calcio presentaron niveles de giberelinas más bajos que el testigo, el mejor tratamiento continuo siendo la aplicación de 200 ppm de P-Ca que presentó un valor de 46.333 ng AG_{4/7} / gps (Cuadro 6 del Apéndice).

Los niveles de giberelinas en el tomate van aumentando al transcurrir el tiempo pero los tratamientos con prohexadiona de calcio siguen manteniendo sus niveles de giberelinas por debajo de los que presenta el testigo (Fig. 1), como en los muestreos anteriores. En el muestreo del día 6 después de la aplicación de los tratamientos se presenta diferencia altamente significativa ($P \leq 0.01$), el testigo presentó niveles altos en comparación a los tratamientos con P-Ca, la aplicación de 200 ppm de P-Ca presentó un valor de 48.666 ng $AG_{4/7}$ / gps, mientras que el testigo mostró un valor de 67 ng $AG_{4/7}$ / gps (Cuadro 8 del Apéndice).

Los resultados en los muestreos de los ápices de chile, en cuanto a niveles de giberelinas, fueron similares a los de tomate (Fig. 2). El primer muestreo de ápices de chile realizado después de la aplicación de prohexadiona de calcio no muestra diferencia entre tratamientos (Cuadro 10 del Apéndice), mostrándose 38 ng $AG_{4/7}$ / gps para 175 ppm de P-Ca y el testigo. El muestreo realizado un día después de la aplicación de prohexadiona de calcio muestra diferencia altamente significativa entre tratamientos, donde la aplicación de 200 ppm de P-Ca presentó 43.666 ng $AG_{4/7}$ / gps y el testigo 49.333 ng $AG_{4/7}$ / gps, correspondientes al menor y mayor nivel de giberelinas del muestreo (Cuadro 12 del Apéndice). Para el muestreo del día 3 los ápices de chile tratados con prohexadiona de calcio mantenían sus niveles de giberelinas por debajo del testigo (Cuadro 14 del Apéndice), mostrando también una diferencia altamente significativa entre los tratamientos, el nivel menor lo presentaron los ápices tratados con 200 ppm de P-Ca con un valor de 46.333 ng $AG_{4/7}$ / gps. Los ápices muestreados el día 6 también presentaron

diferencia altamente significativa ($P \leq 0.01$), donde las aplicaciones de prohexadiona de calcio siguen manteniendo los niveles de giberelinas por debajo del valor presentado en el testigo (Cuadro 16 del Apéndice).

En cuanto a los resultados de los análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masas, en ápices de tomate tratados con prohexadiona de calcio se identificó AG_{20} , mientras en el testigo se presentaron AG_1 , AG_4 y AG_7 . En los ápices de chile tratados con prohexadiona de calcio se identificaron AG_{20} y AG_{53} , y en el testigo se encontraron AG_1 , AG_4 y AG_7 .

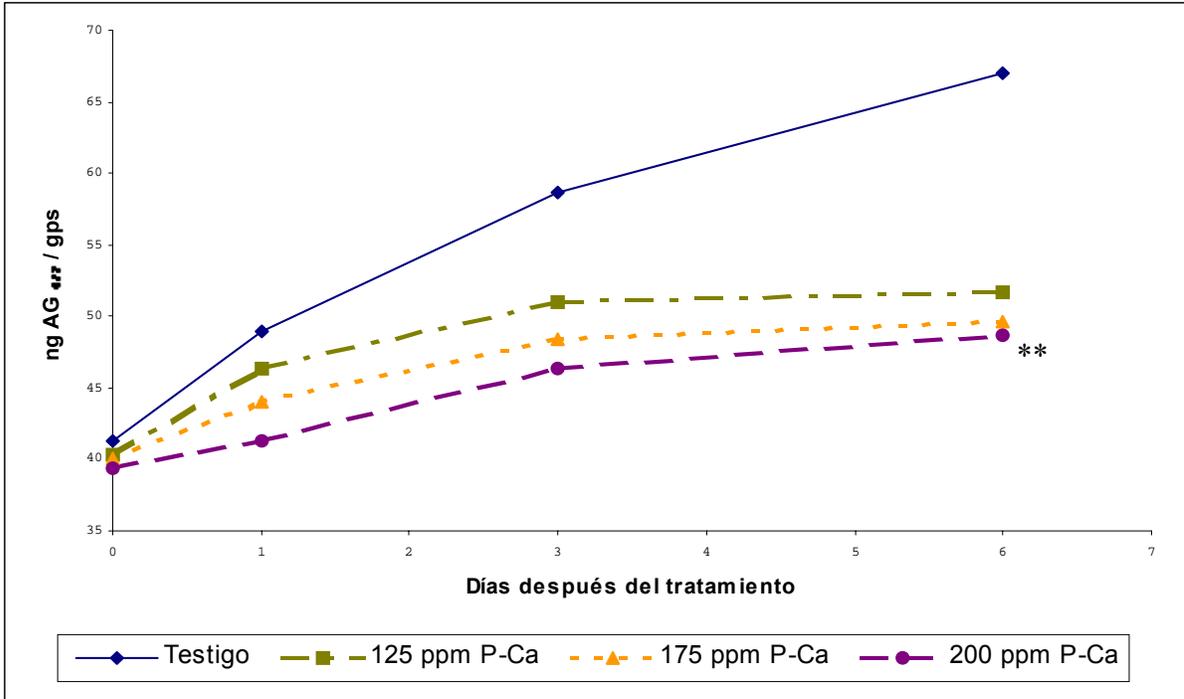


Figura 1. Efecto de Prohexadiona de Calcio en el contenido endógeno de giberelinas en ápices de tomate a diferentes días después de la aplicación. ** $P \leq 0.01$

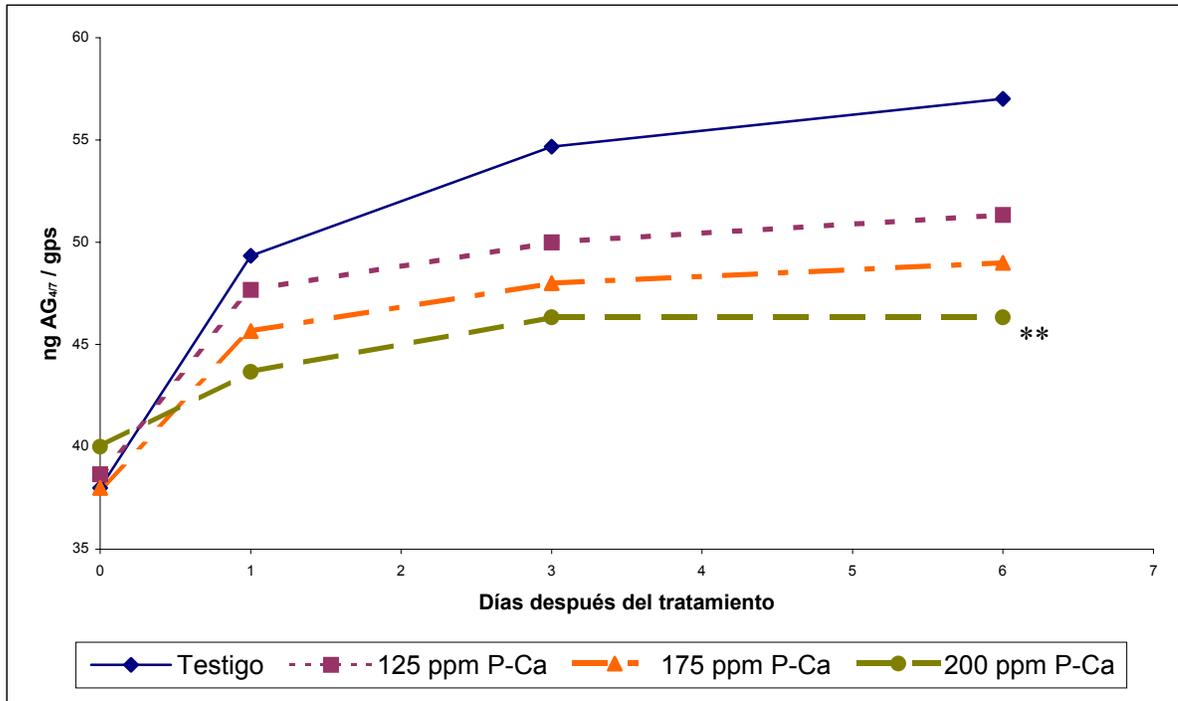


Figura 2. Efecto de Prohexadiona de Calcio en el contenido endógeno de giberelinas en ápices de chile a diferentes días después de la aplicación. ** $P \leq 0.01$

DISCUSIÓN

Ciertos reguladores de crecimiento comerciales que inhiben la elongación del tallo y causan atrofia general tienen este efecto debido en parte a que inhiben la síntesis de giberelina (Salisbury, 1994). Prohexadiona de calcio inhibe la biosíntesis de crecimiento activada por giberelinas (Evans, 1999), esto corresponde a los resultados obtenidos en los niveles giberélicos endógenos que presentaron los ápices de tomate y chile pimiento tratados con prohexadiona de calcio (Fig. 1 y 2).

No existió diferencia en los niveles de giberelinas de ápices en tomate y chile presentados inmediatamente después de la aplicación de los tratamientos, esto puede deberse a lo mencionado por Evans (1999), ya que para una máxima absorción en el follaje, en manzano, prohexadiona de calcio requiere un mínimo de 8 h.

Peralta (2004), al aplicar diferentes dosis de prohexadiona de calcio en tomate redujo los niveles de giberelinas en meristemas apicales, esto fundamenta que los ápices tratados con prohexadiona de calcio presentaron niveles de giberelinas menores a los presentados por el testigo.

En el presente experimento los niveles de giberelinas de ápices tratados con prohexadiona de calcio van aumentando al transcurrir los días, siempre por debajo de los niveles presentados por el testigo, debido a que el crecimiento de las plantas tratadas con retardantes del crecimiento no se suprime por completo (Weaver, 1996). Prohexadiona de calcio se degrada en las plantas en un tiempo medio de pocas semanas de vida (Evans, 1999). Otros productos utilizados en vegetales como Daminozida, Clormequat y Paclobutrazol tienen la desventaja de prolongar su persistencia en las plantas, tienen propiedades toxicológicas y su uso es preocupante (Rojas, 1999; Owens, 1999).

Peralta (2004), encontró AG_{12} y AG_{20} en ápices de tomate tratados con prohexadiona de calcio. La aplicación de prohexadiona de calcio reduce niveles de AG_1 (altamente activa) y causa acumulación de su inmediato precursor, AG_{20} (inactivo) (Evans, 1999). Esto coincide con los resultados obtenidos en el presente experimento, ya que además de encontrar AG_{20} en ápices de tomate y chile pimiento tratados con P-Ca, se presentó AG_{53} , ésta es, según Weaver (1996), también una giberelina inactiva. La presencia de AG_1 en el testigo está bien sustentada, debido a que hay mucha evidencia que indica que esta es una de las principales giberelinas necesarias para la elongación de tomate y otras especies (Salisbury, 1994).

Prohexadiona de calcio como retardante de crecimiento, podría representar una interesante herramienta complementaria para las prácticas culturales y el material

genético usado para conseguir y mantener un equilibrio vegetativo-reproductivo en cultivos hortícolas (Costa, 1999).

CONCLUSIONES

La aplicación de prohexadiona de calcio disminuye los niveles giberélicos endógenos en ápices de tomate y chile pimiento.

Todas las aplicaciones de prohexadiona de calcio disminuyeron los niveles de giberelinas activas, pero los niveles mas bajos de giberelinas se presentaron ante la aplicación de 200 ppm de P-Ca, disminuyendo notablemente el contenido endógeno de giberelinas tanto en los ápices de tomate como de chile.

El retardante de crecimiento prohexadiona de calcio, inhibe la síntesis de giberelinas A₁, A₄ y A₇.

LITERATURA CITADA

- Costa G.; Sabatini, E.; Spinelli, F.; Andreotti, C.; Bomben C.; Vizzotto, G. 1999. Two Years of Application of Prohexadione-Ca on Apple: Effect on Vegetative and Cropping Performance, Fruti Quality, Return Bloom and Residual Efect. En: Extended Abstracts of the 9th International Symposium on Plant Biorregulators in Fruit Production. ISHS, Korea. Pp. 12,13.
- Evans, J. R.; Evans, R. R.; Regusci, C. L.; Rademacher, W. 1999. Mode of Action, Metabolism, and Uptake of BAS 125 W, Prohexadione-calcium. HortScience, Vol. 34(7), December 1999.
- FAO, 2004. FAOSTAT Database. <http://faostat.fao.org>
- Guenko, G. 1983. Fundamentos de Horticultura Cubana. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, Cuba.
- Nisen, A.; Grafiadehis, M.; Jiménez, R.; Martínez García, P. F. 1990. Protected cultivation in the Mediterranean climate. FAO, Plant Production and Protection, paper No. 90. Rome, Italy.
- Nuez, F. 1995. El cultivo del tomate. Ediciones Mundi-prensa. Madrid, España. Pp. 75-79.
- Owens, Christopher L.; Stover Ed. 1999. Vegetative Growth and Flowering of Young Apple Trees in Response to Prohexadione-calcium. HortScience, Vol. 34(7), December, 1999.

- Pérez, G. M. 1997. Chile (*Capsicum annuum*) mejoramiento genético de las hortalizas. Primera edición. Editorial de la UACH. México. Pp. 13, 14.
- Picken, A. J.; Stewart, K.; Klapwijk, P. 1986. Germination and vegetative development. London, New York. Pp. 111-165.
- Pilatti, R. A. 1997. Cultivo Bajo Invernaderos. Editorial Hemisferio Sur, S.A. Universidad Nacional del Litoral, Buenos Aires, Argentina. Pp. 7-33.
- Ramírez R., Homero. 2003. El uso de hormonas en la producción de cultivos hortícolas para exportación. Memorias del 3er Simposio Nacional de Horticultura, Producción, Comercialización y Exportación de Cultivos Hortícolas. México.
- Ramírez H.; Alonso S.; Benavides A. 2005. Prohexadiona-Ca Modifies Growth and Endogenous Hormones Levels in Shoot Apex in Apple Trees. En: Abstracts of the 10th International Symposium on Plant Bioregulators in Fruit Production. ISHS, México. Pp. 47.
- Rodríguez, R. R.; Tabares, J. M.; Medina, J. A. 1997. Cultivo moderno del tomate. Editorial Mundi-prensa. 2^a Edición. Pp. 13, 19-23.
- Rojas Garcidueñas, M.; Ramírez R., Homero; 1987. Control Hormonal del Desarrollo de las Plantas. Editorial LIMUSA. México, D.F. Pp. 203-205.
- Salisbury, Frank B.; Ross, Cleon W. 1994. Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica. México, D. F. Pp. 413, 415.
- Serrano, Z. Z. 1978. Tomate, Pimiento y Berenjena en invernadero. Publicación de extensión agrícola. No. 27. Madrid, España.

- SIACON. 2003. Sistema de Información Agropecuaria de Consulta. Anuario Estadístico Agrícola. Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera, SAGARPA. México.
<http://www.sagarpa.gob.mx>
- USDA. 1998. Marketing México Fruti and Vegetables. International Report 1999. United States Department of Agriculture, Agricultural Marketing System.
- Valadez López, Artemio. 1998. Producción de Hortalizas. Editorial LIMUSA, México. Pp. 185-188, 246-249.
- Vilmorín, D. F. 1976. El cultivo del pimiento dulce tipo Bell. Editorial Diana. México.
- Weaver, Robert J. 1996. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Octava reimpresión. Editorial Trillas. México. Pp. 37, 97.
- Zapata, N. M. 1992. El pimiento para pimentón. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.

APÉNDICE

Cuadro 1. Análisis de varianza para el contenido de giberelinas en ápices de tomate para muestras del día 0.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	6.250000	2.083333	1.1905	0.374NS
ERROR	8	14.000000	1.750000		
TOTAL	11	20.250000			

C.V. = 3.29 %
 NS = No significativo

Cuadro 2. Comparación de medias (DMS a 0.01) para el contenido giberélico en ápices de tomate muestreados el día 0.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	41.333332 A
2	40.333332 A
3	40.000000 A
4	39.333332 A

Cuadro 3. Análisis de varianza para el contenido de giberelinas en ápices de tomate para muestras del día 1.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	96.332031	32.110676	35.0267	
0.000**					
ERROR	8	7.333984	0.916748		
TOTAL	11	103.666016			

C.V. = 2.12 %
 **Altamente significativo

Cuadro 4. Comparación de medias (DMS) para el contenido giberélico en ápices de tomate muestreados el día 1.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	49.0000 A
2	46.3333 B
3	44.0000 B
4	41.3333 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

Cuadro 5. Análisis de varianza para el contenido de giberelinas en ápices de tomate para muestras del día 3.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	262.916016	87.638672	35.0555	0.000**
ERROR	8	20.000000	2.500000		
TOTAL	11	282.916016			

C.V. = 3.10 %

**Altamente significativo

Cuadro 6. Comparación de medias (DMS) para el contenido giberélico en ápices de tomate muestreados el día 3.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	58.6667 A
2	51.0000 B
3	48.3333 BC
4	46.3333 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

Cuadro 7. Análisis de varianza para el contenido de giberelinas en ápices de tomate para muestras del día 6.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	664.250000	221.416672	177.1333	0.000**
ERROR	8	10.000000	1.250000		
TOTAL	11	674.250000			

C.V. = 2.06 %

**Altamente significativo

Cuadro 8. Comparación de medias (DMS) para el contenido giberélico en ápices de tomate muestreados el día 6.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	67.0000 A
2	51.6667 B
3	49.6667 B
4	48.6667 B

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

Cuadro 9. Análisis de varianza para el contenido de giberelinas en ápices de chile pimienta para muestras del día 0.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	7.998047	2.666016	0.3764	0.774NS
ERROR	8	56.667969	7.083496		
TOTAL	11	64.666016			

C.V. = 6.88 %

NS = No significativo

Cuadro 10. Comparación de medias (DMS) para el contenido giberélico en ápices de chile pimienta muestreados el día 0.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	38.000000 A
2	38.666668 A
3	38.000000 A
4	40.000000 A

Cuadro 11. Análisis de varianza para el contenido de giberelinas en ápices de chile pimienta para muestras del día 1.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	54.250000	18.083334	9.8641	0.005**
ERROR	8	14.666016	1.833252		
TOTAL	11	68.916016			

C.V. = 2.91 %

** Altamente significativo

Cuadro 12. Comparación de medias (DMS) para el contenido giberélico en ápices de chile pimienta muestreados el día 1.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	49.3333 A
2	47.6667 A
3	45.6667 AB
4	43.6667 B

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

Cuadro 13. Análisis de varianza para el contenido de giberelinas en ápices de chile pimiento para muestras del día 3.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	116.916016	38.972004	27.5081	0.000**
ERROR	8	11.333984	1.416748		
TOTAL	11	128.250000			

C.V. = 2.39 %

**Altamente significativo

Cuadro 14. Comparación de medias (DMS) para el contenido giberélico en ápices de chile pimiento muestreados el día 3.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	54.6667 A
2	50.0000 B
3	48.0000 BC
4	46.3333 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

Cuadro 15. Análisis de varianza para el contenido de giberelinas en ápices de chile pimiento para muestras del día 6.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	185.583984	61.861328	21.2108	0.001**
ERROR	8	23.332031	2.916504		
TOTAL	11	208.916016			

C.V. = 3.35 %

**Altamente significativo

Cuadro 16. Comparación de medias (DMS) para el contenido giberélico en ápices de chile pimiento muestreados el día 6.

TRATAMIENTO	MEDIA
1	57.0000 A
2	51.3333 B
3	49.0000 BC
4	46.3333 C

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01