

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



IDENTIFICACIÓN DE AUXINAS, GIBERELINAS Y CITOQUININAS EN FRUTOS
DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus L.*)

Tesis

Que presenta MANUEL ESPINOSA VÁZQUEZ

Como requisito parcial para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila

Julio 2024

IDENTIFICACIÓN DE AUXINAS, GIBERELINAS Y CITOCININAS EN FRUTOS
DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus L*)

Tesis

Elaborada por MANUEL ESPINOSA VÁZQUEZ 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

Director de Tesis

Dr. Alejandro Zermeño González

Asesor

Dr. Armando Hernández Pérez

Asesor

Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla

Asesor

Dr. Antonio Flores Naveda

Subdirector de Postgrado

UAAAN

Saltillo, Coahuila

Julio 2024

AGRADECIMIENTOS

Al CONAHACYT por otorgarme los beneficios necesarios para el estudio de grado.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por las facilidades otorgadas para formarme a nivel maestría.

A mi asesor principal Dr. Homero Ramírez Rodríguez, por el tiempo dedicado y el conocimiento brindando para la realización de este proyecto, así como también, el apoyo otorgado para el crecimiento profesional personal.

Al comité de asesoría integrado por Dr. Alejandro Zermeño González, Dr. Armando Hernández Pérez y Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla, por su activa colaboración y aportes a este proyecto haciendo posible la culminación del mismo.

Al MC. Juan Carlos Gonzales Escobar, por haber iniciado este proyecto, su asesoría en momentos cruciales y su dedicación han sido fundamentales para el desarrollo y éxito de este trabajo.

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía y fortaleza en cada paso de este viaje. A mis padres, Juana Vázquez de la Torre y Dionicio Espinosa Calvo, por su amor incondicional y sacrificios invaluables, que han hecho posible este logro. A mis hermanas, Blanca Guadalupe, Esmeralda del Carmen, e Inés Alejandra, por su apoyo constante y su fe en mí, que me han impulsado a alcanzar mis sueños. A mis familiares y amigos, quienes han compartido alegrías, retos y sueños, gracias por su presencia y cariño inquebrantable. Cada momento de este camino ha sido enriquecido por ustedes, y este logro es tanto mío como de ustedes.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA	iv
INDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO	2
OBJETIVO ESPESÍFICO	2
HIPOTESIS.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Generalidades del cultivo	3
Origen	3
Taxonomía	3
Morfología.....	4
Requerimientos climáticos y manejo agronómico.....	4
Importancia económica.....	7
Fitohormonas u Hormonas Vegetales	9
Giberelinas.....	9
Auxinas	10
Citoquininas	11
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
Material vegetal, sitio y diseño.....	13

Extracción, purificación e identificación.....	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
Giberelinas.....	18
Auxinas.....	19
Citocininas.....	21
CONCLUSIÓN.....	24
REFERENCIAS	25

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de <i>Rubus idaeus</i> L.	3
Cuadro 2. Los primeros 10 países con mayor producción de frambuesa (<i>Rubus idaeus</i> L.) en el 2022.	9
Cuadro 3. índice de retención (Kovats) de giberelinas en frutos de frambuesa cv. UANC-2022.....	18

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tendencia de la producción de frambuesa en México de los años 2005 – 2022 fuente: FAO, 2024	7
Figura 2. Tendencia del rendimiento en México de los años 2000 – 2022 fuente: FAO, 2024.....	8
Figura 3. Diagrama de flujo del procedimiento utilizado para la extracción y purificación de extractos de frutos en desarrollo de frambuesa para el análisis de giberelinas mediante GC-MS	14
Figura 4. Diagrama de flujo del procedimiento para la extracción y purificación de extractos de frutos en desarrollo de frambuesa para citoquininas utilizando HPLC y GCMS-SIM.....	17
Figura 5. Cromatograma del ion escáner de ácido indol acético en fruto de frambuesa cv. UANC-2022 (a) y su comparativo con el isótopo [13C6] AIA estándar (b). Cada pico representa la media de tres replicas.....	20
Figura 6. Espectro de masas para ácido indol acético (AIA) presente en frutos de frambuesa cv. UANC-2022. Datos representan la media de tres réplicas.	21
Figura 7. Espectro de masas para zearina (Z) presente en frutos de frambuesa cv. UANC-2022. Datos representan la media de tres réplicas.	22
Figura 8. Espectro de masas para zearina ribósido (ZR) presente en frutos de frambuesa cv. UANC-2022. Datos representan la media de tres réplicas.	23

RESUMEN

IDENTIFICACIÓN DE AUXINAS, GIBERELINAS Y CITOQUINAS EN FRUTOS DE FRAMBUESA (*Rubus idaeus L.*)

Por:

MANUEL ESPINOSA VÁZQUEZ

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Dr. HOMERO RAMÍREZ RODRÍGUEZ - ASESOR

Saltillo, Coahuila

Julio 2024

La frambuesa es una frutilla de gran demanda actual en el mercado internacional. Su principal atractivo radica en el alto contenido en vitaminas A y C, fibra, nutrientes como Ca y Fe, flavonoides y antioxidantes entre los que destaca el ácido elágico en su fruto. Estos compuestos, además de ser integrantes en su aroma y sabor, contribuyen a fortalecer el sistema inmunológico del ser humano contra enfermedades como el cáncer, diabetes y de origen cardiovasculares. Las hormonas endógenas influyen en el rol de esas moléculas durante el crecimiento y desarrollo del fruto en varias especies hortícolas. En frambuesa, es desconocido la presencia de hormonas naturales en el fruto. Por ello, se investigó la posible presencia de hormonas en frutos de frambuesa cv. UANC-2022, en el departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, utilizando la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas con un diseño completamente al azar y una comparación de medias de Tukey ($p \geq 0.05$). Se identificaron las giberelinas A₄, A₇, A₄₄ y A₅₃; la auxina ácido indol acético y las citocininas zeatina y zeatina ribósido. Estos resultados ofrecen la ruta para estudios futuros y dirigidos hacia como estas hormonas participan en el crecimiento y desarrollo del fruto en frambuesa.

Palabras clave: Bioreguladores; crecimiento; cromatografía; frutillas

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF AUXINS, GIBBERELLINS AND CYTOKININS IN FRUITS OF RASPBERRY (*Rubus idaeus L.*)

By:

MANUEL ESPINOSA VÁZQUEZ

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

Dr. HOMERO RAMÍREZ RODRÍGUEZ - ADVISOR

Saltillo, Coahuila

July 2024

Raspberry is a crop of great demand in recent years in the international market. This distinction is focused on its high content in vitamins A and C, fiber, nutrients such as Ca and Fe, flavonoids and antioxidants among which elagic acid stands out. These compounds besides to be as part of aromatic and taste characteristics of the fruit, contribute to the immunology human system strengthening. In particular against diseases such as cancer, diabetes and cardiovascular. Endogenous hormones direct the role of these molecules during fruit growth and development in several horticultural species. In raspberry it is unknown. For this reason, it was investigated the presence of endogenous hormones in fruits of raspberry cv. UANC-2022, in the Department of Horticulture at the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, using the gas chromatography mass spectrometry technology under a complete randomized design and a Tukey's mean comparison ($p \geq 0.05$). The following hormones were identified: gibberellins A₄, A₇, A₄₄ y A₅₃; the auxin indole acetic acid and the cytokinins zeatin and zeatin-riboside. These results open a new alternative for future studies related to the role of endogenous hormones in the growth and development of fruit in raspberry.

Key words: Bioregulators; berries; chromatography; growth

INTRODUCCIÓN

Los biorreguladores son un amplio grupo de compuestos orgánicos y sintéticos el cual incluye las fitohormonas, extractos naturales o compuestos sintéticos (Srivastava *et al.*, 2016) y surgen como una herramienta prometedora para la agricultura ofreciendo mejores oportunidades para mejorar el desarrollo, calidad y rendimiento, permitiendo así poder mejorar la eficiencia y bajar los costos de producción en cualquier cultivo hortícola (Nevins, 1995).

Las fitohormonas u hormonas vegetales son compuestos orgánicos producidos por las plantas a muy bajas concentraciones (Alcántara-Cortes *et al.*, 2019), participan en varias respuestas fisiológicas en las plantas como germinación, el enraizamiento, la floración, maduración, senescencia, entre otros (Castro-Camba *et al.*, 2022) además de tolerancia a diferentes tipos de estrés biótico y abiótico (Fahad *et al.*, 2015). A diferencia de las hormonas animales las fitohormonas no son producidas por glándulas, sino que se producen en cualquier parte de las plantas y pueden ser transportados o utilizados en el mismo lugar que se produjo (Gaspar *et al.*, 2003) de acuerdo con su estructura y función fisiológica las fitohormonas han sido clasificados en varios grupos siendo las principales giberelinas, citoquinas, auxinas, ácido abscísico, etileno, entre otros (Aguilar *et al.*, 2010).

El cultivo de frambuesa continúa en expansión constante. Esta frutilla en años recientes ha adquirido relevancia hortícola mundial principalmente por su alto valor económico y por la riqueza alimenticia que proporciona al consumidor; particularmente, por su alto contenido de antioxidantes, minerales y vitaminas. En la actualidad, para satisfacer la alta demanda en el mercado internacional se requiere implementar nuevas tecnologías que permitan mejorar su rendimiento y calidad. En 2021, México se distinguió como el segundo productor mundial de esta frutilla con 128,848 t y destacó como uno de los de mayor rendimiento por hectárea en el mundo al promediar 18.8 t ha⁻¹ (SADER, 2021). El valor de exportación en 2022 superó los \$1000 millones de dólares. El tamaño del fruto de frambuesa representa un importante índice de referencia para su precio en el mercado. En frutos como manzano, tomate y chile habanero se ha demostrado

la presencia de hormonas endógenas como giberelinas y citocininas (Ramírez *et al.*, 2021). Estas hormonas han sido relacionadas con el crecimiento y desarrollo del fruto. Las citocininas directamente involucradas en la división celular al inicio del crecimiento (Bu *et al.*, 2020; Costa y Botton, 2022); mientras que, las giberelinas en la elongación del fruto (Sansavini *et al.*, 2019).

OBJETIVO

Indagar la presencia de hormonas vegetales en frutos jóvenes de frambuesa cv. UANC-2022

OBJETIVO ESPESÍFICO

Determinar que hormonas vegetales se encuentran presentes en frutos jóvenes de frambuesa cv. UANC-2022

HIPOTESIS

Existe la presencia de hormonas vegetales endógenas en frutos jóvenes en desarrollo de frambuesa cv. UANC-2022

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades del cultivo

Origen

El frambueso, conocido científicamente como *Rubus idaeus* L, se cree que se originó en Grecia, específicamente en el Monte Ida (Kosiński y Maliński, 2013; Sobczykiewicz, 1992; Snir, 1988). Desde allí, se extendió a Italia, los Países Bajos, Inglaterra y eventualmente a América del Norte (Kosiński y Maliński, 2013). La planta ha sido cultivada durante casi 400 años, con esfuerzos deliberados de cría que han llevado a mejoras significativas en sus variedades.

Taxonomía

La taxonomía de *Rubus idaeus* L, que es la especie de la frambuesa roja común, se clasifica de la siguiente manera:

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Rubus idaeus* L.

Clasificación taxonómica	
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Subfamilia	Rosoideae
Género	<i>Rubus</i>
Especie	<i>Rubus idaeus</i>

Fuente: Jennings *et al.*, 1991

Morfología

La morfología de la planta de frambuesa (*Rubus idaeus L.*) se puede describir de la siguiente manera:

Raíz: La planta de frambuesa tiene un sistema radicular que puede extenderse ampliamente en el suelo. Las raíces pueden dar origen a brotes nuevos a través de yemas que se desarrollan lateralmente en las raíces (García et al., 2014).

Tallo: Los tallos de la frambuesa son de naturaleza leñosa y pueden ser cortos o largos, dependiendo de la variedad y de las condiciones de crecimiento. Estos tallos pueden surgir de yemas en las raíces, y también pueden desarrollarse como brotes laterales en los tallos existentes (Morales, 2009).

Hojas: Las hojas de la frambuesa son alternas y generalmente están compuestas por tres o cinco foliolos. Son de forma ovalada y tienen bordes serrados. Las hojas son verdes y pueden tener un tono más claro en la parte inferior (Nievas et al., 2023).

Flores: Las flores se agrupan en inflorescencias y son muy atractivas y apetecibles por las abejas ya que, además de polen, tienen mucho néctar. Son hermafroditas, de color blanco, compuestas de cinco pétalos con numerosos estambres y pistilos y, si bien la inmensa mayoría de las variedades son totalmente auto fértiles, la polinización cruzada puede mejorar las producciones. El cáliz es persistente y está formado por cinco sépalos de pelosidad variable (García et al., 2014).

Frutos: El fruto de la frambuesa es una baya compuesta formada por numerosos frutillos, cada uno desarrollado a partir de un carpelo individual. Los frutos maduros son de color rojo intenso y se desprenden fácilmente de la planta cuando están maduros (Morales, 2009).

Requerimientos climáticos y manejo agronómico

El cultivo se desarrolla en climas templados con inviernos bien definidos, donde las temperaturas oscilan entre 5 y 20 °C. Las temperaturas elevadas favorecen la fotosíntesis y el crecimiento de la planta, mientras que las bajas temperaturas son esenciales para el proceso de floración, requiriéndose entre 700 y 1,200

horas de frío durante el invierno. En cuanto al suelo, es fundamental que sea profundo, fértil y tenga buen drenaje, ya que la planta es muy susceptible a la asfixia radicular. Se recomienda el uso de suelos de textura arenosa o franco-arenosa, con un pH ligeramente ácido y una conductividad eléctrica inferior a 1.2 dS/m (Nievas *et al.*, 2023; Privé *et al.*, 1993; Hudson, 1959)

Se pueden encontrar dos tipos de frambuesas: reflorecientes (remontantes) y no reflorecientes. Las variedades reflorecientes pueden dar dos cosechas al año, la primera cosecha se obtiene de la parte apical del tallo y la segunda de las yemas laterales. Las variedades reflorecientes requieren menos horas de frío (Kazakov y Evdokimenko, 2010; Weber *et al.*, 2004). Por otro lado, las variedades no reflorecientes crecen durante el primer año y fructifican en el segundo año. Generalmente necesitan un soporte en forma de V y deben ser podadas después de la cosecha (García *et al.*, 2014).

La época de plantación normal es de invierno a primavera, pero si se tienen condiciones óptimas se puede hacer en cualquier época del año con variedades reflorecientes. La distancia entre calles que facilita las labores mecánicas es de 2 a 3 metros. La estructura preferida para desarrollar este cultivo bajo cubierta en México es el macrotúnel, ya que permite tener una atmósfera semi-controlada. La poda en frambuesa tiene distintas finalidades, entre estas: sanitarias, estructurales, reproductivas y de cosecha. Las actividades se dividen por la temporada en que son efectuadas: invierno y verano. Las podas de invierno son: Sanitaria: se eliminan aquellas plantas enfermas, con mala apariencia y que alberguen plagas. Raleo: limita el número de cañas por metro cuadrado para proveer suficiente espacio de desarrollo, facilitar la cosecha y mejorar la entrada de luz. Se manejan de 20 a 25 cañas por metro cuadrado para una producción óptima. Rebaje: se realiza el despunte de las cañas en variedades reflorecientes que produjeron durante finales de verano y otoño con la finalidad de que la parte despuntada produzca fruto en los laterales de la siguiente temporada y se sugiere dejar al menos de 15 yemas o nudos. Cañas de segundo año: se identifican aquellas que terminaron su ciclo productivo y se eliminan para dejar espacio a los tallos de una nueva temporada. A piso: se realiza en variedades reflorecientes

y se poda a ras del suelo para eliminar las cañas de primavera con el objetivo de concentrar la producción en el otoño (Nievas *et al.*, 2023; Linnemannstöns, 2020). El manejo del agua en la frambuesa es crítico, ya que requiere una cantidad suficiente de agua para llevar a cabo cada una de sus funciones metabólicas y fisiológicas, un rango razonable va de 238 – 207 en un sistema de microaspersión o de goteo (Roliecki, 2001), sin embargo, es una planta altamente susceptible a la asfixia radicular por lo que un exceso de humedad en el suelo o sustrato puede mermar la producción. Satisfacer las necesidades hídricas del cultivo se logra tomando en cuenta los requerimientos del cultivo, la evapotranspiración y el tipo de suelo. El riego se puede medir y monitorear mediante el uso de los sensores, tensímetros etc., además son herramientas que permiten decidir la frecuencia y cantidad de riego requerida para satisfacer la demanda de agua diaria del cultivo. El método más eficiente para proporcionar agua a la planta es el riego por goteo, y al mismo tiempo es un sistema que permite incorporar las fuentes de nutrientes al riego (Bryla *et al.*, 2008).

El manejo integrado de plagas (MIP) implica medidas como la prevención, monitoreo, nutrición adecuada, prácticas culturales, control biológico y control químico (Martínez, 2010). Algunas plagas importantes pueden llegar a presentarse incluyen la araña roja (*Tetranychus urticae*), la mosca del vinagre (*Drosophila suzukii*), trips (*Frankliniella occidentalis*, *Thrips tabaci*), cabritos (*Aegorhinus spp*) y mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*, *Bemisia tabaci*). Es importante utilizar una combinación de herramientas y técnicas para minimizar el impacto negativo en el ecosistema, incluido el control químico, pero priorizando métodos menos dañinos (Cisternas *et al.*, 2000)

Enfermedades: El manejo integrado de enfermedades (MIE) implica diagnóstico, control cultural, genético, biológico y químico (Gaitán *et al.*, 2013). Las enfermedades comunes incluyen roya (*Pucciniastrum americanum*), moho gris (*Botrytis cinerea*), agallas de la corona (*Agrobacterium tumefaciens*), marchitez (*Verticillium spp.*), pudrición del cuello y raíces (*Phytophthora spp.*), y oídio (*Sphaeroteca macularis*). Prácticas como selección de plantas sanas, uso de

variedades resistentes y manejo adecuado del cultivo pueden reducir la incidencia de enfermedades (Cisternas *et al.*, 2000)

Importancia económica

El cultivo de berries es una importante actividad socioeconómica de México siendo los principales productores Jalisco, Baja California y Michoacán los cuales incluyen cultivos como el arándano (*Vaccinium spp.*), frambuesa (*Rubus idaeus*) y zarzamora (*Rubus ulmifolius*) (Lagunes-Fortiz *et al.*, 2020).

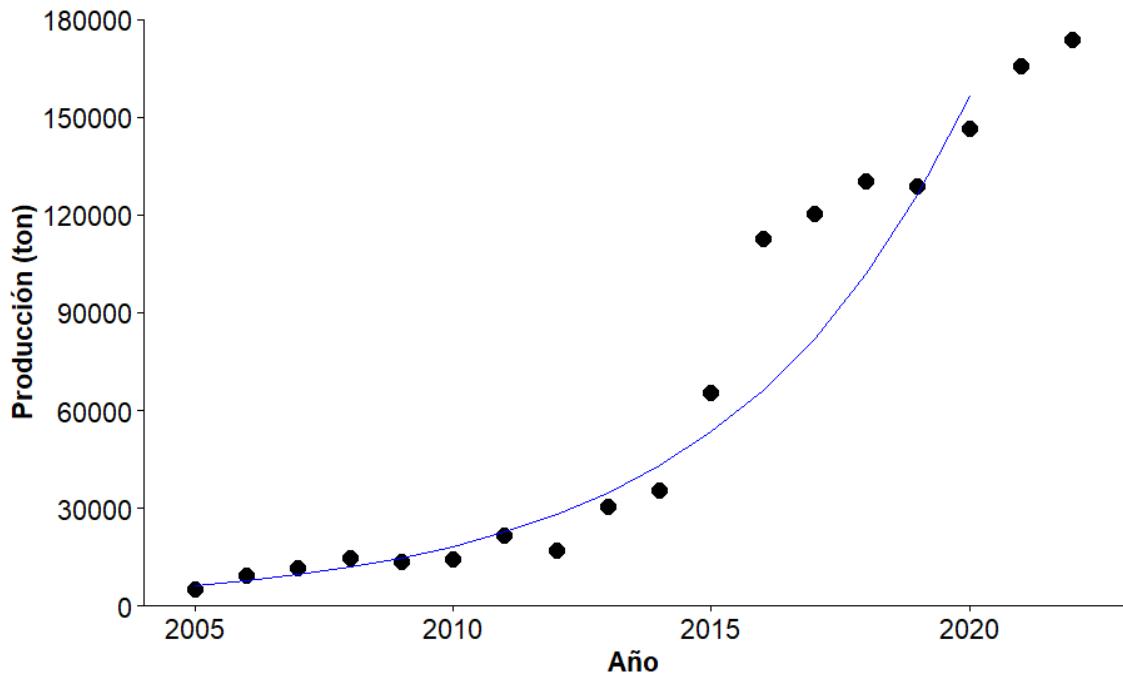


Figura 1. Tendencia de la producción de frambuesa en México de los años 2005 – 2022 fuente: FAO, 2024

Requieren inversiones considerables de capital para su cultivo, su elevada rentabilidad, el rápido retorno de la inversión, los altos requerimientos de mano de obra, la versatilidad en la producción de frutos para consumo y las posibilidades de exportación factibles, los convierten en cultivos con un gran potencial agrícola (González-Ramírez *et al.*, 2020).

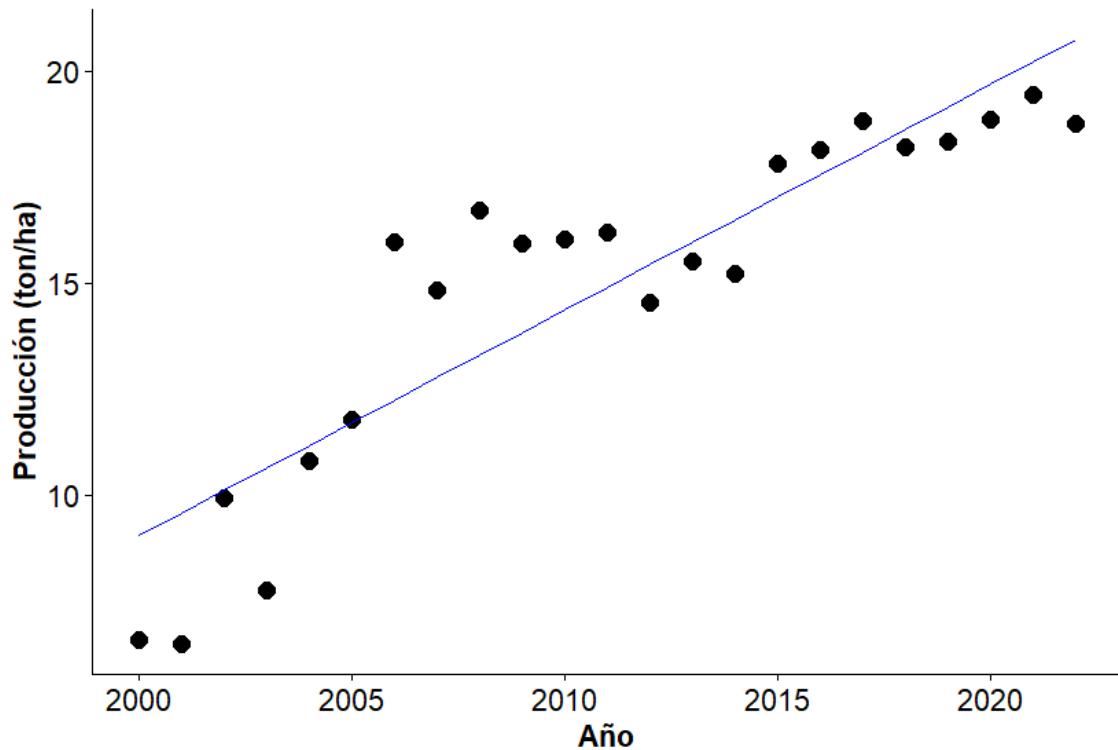


Figura 2. Tendencia del rendimiento en México de los años 2000 – 2022 fuente: FAO, 2024

Los berries son consumidos tradicionalmente en las regiones del norte de América y Europa; sin embargo, en los últimos años la demanda mundial de estos productos se ha incrementado, lo cual ha promovido un incremento en su producción a nivel mundial (González y Johnson, 2015).

Cuadro 2. Los primeros 10 países con mayor producción de frambuesa (*Rubus idaeus L.*) en el 2022.

Área	Valor (ton)
Federación de Rusia	212,300.0
México	173,741.7
Serbia	116,093.0
Polonia	104,900.0
Estados Unidos de América	76,480.0
España	45,420.0
Marruecos	45,039.5
Ucrania	33,570.0
Portugal	29,300.0
Reino Unido	16,343.0

Fuente: FAO, 2022

Fitohormonas u Hormonas Vegetales

Giberelinas

Las giberelinas son un grupo de fitohormonas esenciales que juegan un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Descubiertas en la década de 1930 gracias a estudios sobre el hongo *Gibberella fujikuroi*, estas hormonas han sido objeto de numerosas investigaciones debido a su capacidad para influir en diversos procesos fisiológicos vegetales (Hedden et al., 2002).

Hasta la fecha, se han identificado más de 130 tipos de giberelinas en plantas, hongos y bacterias. Estas se nombran con las siglas GA seguidas de un número, como GA₁, GA₂, etc. Entre ellas, las giberelinas GA₁, GA₃ y GA₄ son las más comunes y estudiadas, siendo GA₃ (ácido giberélico) particularmente activa y ampliamente utilizada en aplicaciones agrícolas (Sponsel y Hedden, 2004).

Las giberelinas tienen múltiples funciones en las plantas. Promueven la elongación y división celular en los tallos, resultando en un crecimiento en longitud. Este efecto es especialmente notorio en plantas enanas o en aquellas

que requieren un mayor desarrollo vertical. En algunas especies, las giberelinas pueden desencadenar la floración, particularmente en plantas que florecen en días largos. Por ejemplo, en la espinaca y ciertas gramíneas, la aplicación de giberelinas puede sustituir la necesidad de un largo periodo de luz diurna. Además, influyen en el tamaño y la forma de los frutos. En uvas, por ejemplo, la aplicación de GA₃ se utiliza para producir bayas más grandes y mejorar la calidad del racimo. Pueden inducir el desarrollo de frutos partenocápicos, es decir, frutos sin semillas, lo cual es beneficioso para ciertos cultivos comerciales (Kalra y Bhatla, 2018a; López-Lauri, 2016; Gallego, 2008).

A nivel molecular, las giberelinas actúan regulando la expresión génica. El proceso se inicia con la percepción de la giberelina por receptores específicos en la célula, que activan una cascada de señalización. Esto lleva a la degradación de las proteínas represoras DELLA, que inhiben el crecimiento. Una vez degradadas, se libera la inhibición y se activan genes responsables de la elongación celular y otros procesos de crecimiento (Fukazawa *et al.*, 2021).

Auxinas

Las auxinas son un grupo de fitohormonas fundamentales en la regulación del crecimiento y desarrollo de las plantas (Yue *et al.*, 2014). Descubiertas a principios del siglo XX, estas hormonas han sido objeto de extensa investigación debido a su papel central en procesos como la elongación celular, la formación de raíces y la respuesta a la luz. La auxina más común y estudiada es el ácido indolacético (AIA o IAA por sus siglas en inglés). Además del AIA, existen otros tipos de auxinas naturales y sintéticas, como el ácido indolbutírico (IBA) y el ácido naftalenacético (ANA), que se utilizan ampliamente en investigaciones y aplicaciones agrícolas (Enders y Strader, 2015).

Las auxinas tienen una variedad de funciones en las plantas, los cuales promueven la elongación de las células en los tallos y otros órganos vegetales (Beyá-Marshall *et al.*, 2022). Las auxinas activan bombas de protones en la membrana plasmática, acidificando la pared celular y facilitando su extensión. Estimulan la formación de raíces adventicias y laterales. Esta propiedad es

utilizada en la propagación vegetativa de plantas, donde el AIA o IBA se aplica a esquejes para fomentar el enraizamiento (Montri *et al.*, 2023). Regulan la dominancia apical, un fenómeno donde la yema apical inhibe el crecimiento de yemas laterales. Participan en las respuestas de fototropismo (crecimiento hacia la luz) y gravitropismo (crecimiento en respuesta a la gravedad). En el fototropismo, las auxinas se redistribuyen hacia el lado sombreado del tallo, promoviendo la elongación celular y causando que la planta se incline hacia la luz (Friml, 2003).

Las auxinas funcionan a nivel celular y molecular mediante la regulación de la expresión génica. Las auxinas se perciben por receptores específicos en la célula, que luego activan una serie de señales que culminan en la degradación de represores de la transcripción. Esto permite la activación de genes responsables de la expansión celular, diferenciación de tejidos y otros procesos de crecimiento (Woodward y Bartel, 2005; Benková *et al.*, 2003).

Citoquininas

Las citoquininas son un grupo de fitohormonas que juegan un papel vital en la regulación de la división y diferenciación celular en las plantas (To y Kieber, 2008). Descubiertas en la década de 1950 Skoog y sus colaboradores aislaron una sustancia a partir del ADN del esperma de arenque, un pez del género Clupea (Kalra y Bhatla 2018b). Al aplicar esta sustancia a cultivos de tejido de tabaco, observaron que inducía la división celular, a este compuesto se le dio el nombre de kinetina. A pesar de ser una sustancia natural, la kinetina es considerada una citoquinina sintética, ya que no se produce de manera endógena en las plantas, estas hormonas han sido objeto de extensos estudios debido a su influencia en una variedad de procesos fisiológicos esenciales para el desarrollo y crecimiento vegetal. Las citoquininas se dividen en dos categorías principales: citoquininas naturales y citoquininas sintéticas. Entre las naturales, la zeatina es una de las más comunes. Entre las sintéticas, la 6-bencilaminopurina (BAP) y la kinetina son ampliamente utilizadas en investigaciones y aplicaciones agrícolas (Feng *et al.*, 2017).

Las citoquininas tienen múltiples funciones en las plantas. Promueven la mitosis y la división celular en las raíces y los brotes. Las citoquininas son esenciales para el crecimiento y desarrollo de nuevos órganos vegetales y tejidos. Trabajan en conjunto con las auxinas para regular la diferenciación de las células. En presencia de citoquininas y auxinas, las células pueden diferenciarse en distintos tipos de tejidos vegetales (Kieber y Schaller, 2014). También, las citocininas retrasan la senescencia de las hojas y otros órganos vegetales. Esto se debe a su capacidad para mantener la síntesis de clorofila y proteínas, prolongando así la vida útil de los tejidos vegetales. También contrarrestan la dominancia apical inducida por las auxinas, promoviendo el crecimiento de yemas laterales y ramificaciones. Este equilibrio entre auxinas y citoquininas es crucial para la arquitectura de la planta (Kieber y Schaller, 2018).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal, sitio y diseño.

La investigación se realizó en 2023 en el laboratorio de fisiología vegetal en el departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Saltillo, Coahuila, México ubicado en las coordenadas 101°01' longitud oeste y 25°21' latitud norte. Se utilizaron grupos separados de 50 frutos de 5 semanas de edad de plantas de frambuesa cv. UANC – 2022. Los análisis para auxinas, giberelinas y citocininas se realizaron con tres réplicas técnicas utilizando un diseño completamente al azar y los datos obtenidos, cuando aplicable se sometieron a una comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0.05$).

Extracción, purificación e identificación.

La extracción de los tres grupos hormonales se efectuó con la técnica de Ramírez *et al.* (2021). Las muestras de frutos fueron colectadas de plantas experimentales y congeladas en nitrógeno líquido, molidas en mortero y secadas en un liofolizador FSF -18N (Huanghai F. Inst. Co. Ltd. China) a – 40 °C. Las auxinas, giberelinas y citocininas fueron extraídas con metanol al 80%, filtradas y el residuo reextraído en tres ocasiones con metanol al 80%. Los filtrados se integraron y luego se dividieron en tres grupos. La purificación de muestras para auxinas y giberelinas fueron ajustadas a un pH de 3.0 con HCl y se les realizó una partición con acetato de etilo en cuatro ocasiones. Se ajustó el pH a 8.0 con solución Buffer de fosfato (0.1 M), se agregó 5 g de PVP, se filtró y ajustó el pH a 3.0 con HCl. Se realizó partición con acetato de etilo, luego se secó la muestra. Para el análisis de giberelinas se utilizó la técnica reportada por Ramírez *et al.* (2018) como se ilustra en la figura 3, cada muestra fue pasada por una columna de ácido silícico (15 x 25 cm) y la columna eluida secuencialmente con 100 mL de acetato de etilo 10, 20 y 30 % en n-hexano saturado con ácido fórmico (0.5 M). Las muestras purificadas fueron disueltas en gotas de metanol y metiladas con diazometano. Una porción del extracto metilado se disolvió en piridina y se trató con trimetilclorosilano y hexiametildisilazano.

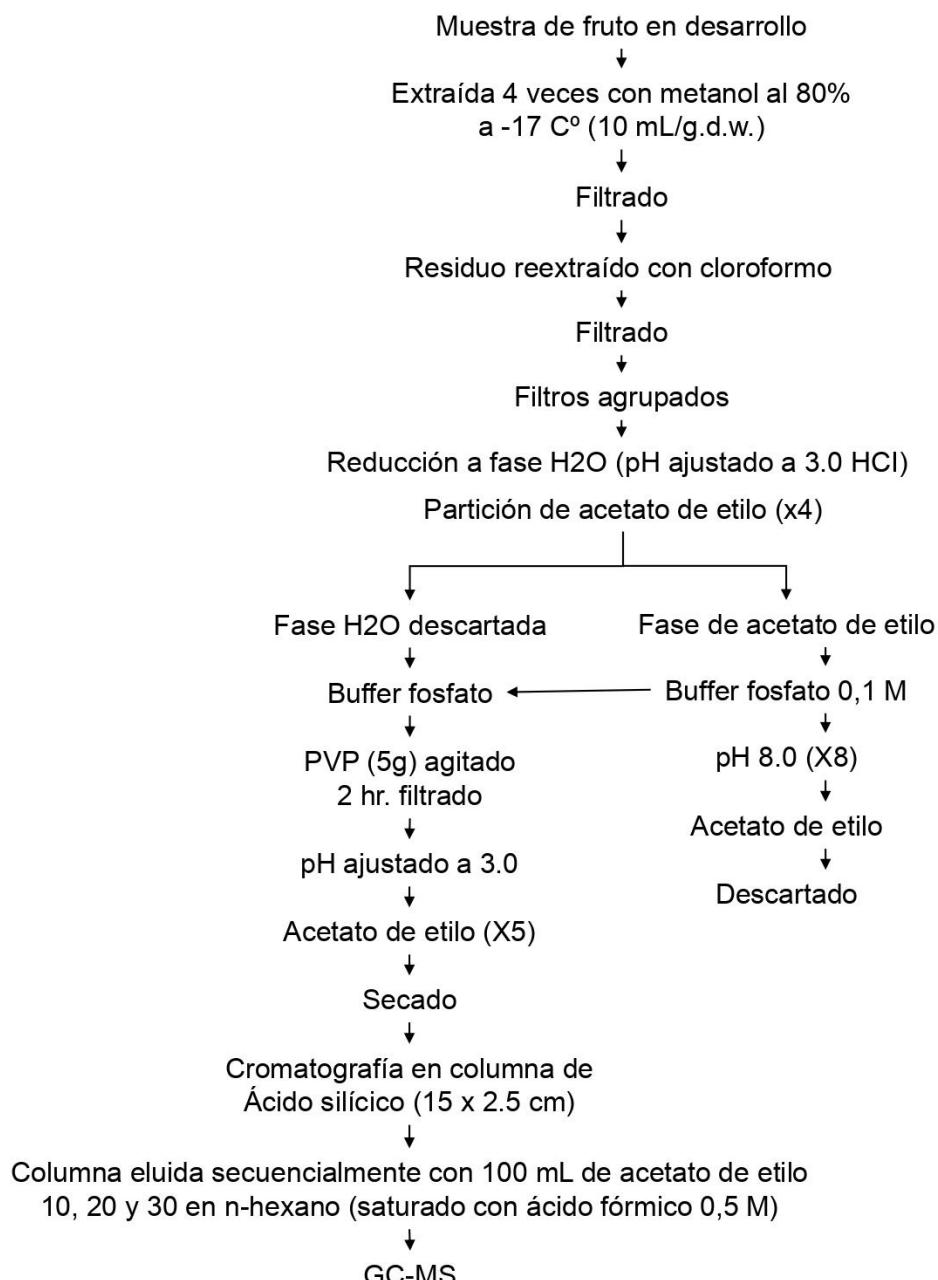


Figura 3. Diagrama de flujo del procedimiento utilizado para la extracción y purificación de extractos de frutos en desarrollo de frambuesa para el análisis de giberelinas mediante GC-MS

Se examinaron alícuotas utilizando una cromatografía líquida de gases (GLC) Pye 104 acoplada a través de un separador de membrana de silicona a un espectrómetro de masas de doble haz AEI MS30. Las columnas de vidrio silanizado (213 x 0.2 cm) se empaquetaron con 2% de SE-33 en 80-100 Gas Chrom Q. El caudal de He fue de 25 mL/min y la temperatura de la columna se programó de 180 °C a 280 a 2 °C/min. La EM se determinó a 24eV a una temperatura de la fuente de 210 °C y una temperatura del separador de 190 °C con una velocidad de barrido de 6.5 s por década de masa. Los espectros fueron reordenados por un ordenador DEC Linc 8. La identificación y cuantificación de las giberelinas se llevó a cabo mediante la comparación de los espectros KRI y MS de sus derivados de ésteres metílicos de trimetilsililo con los de las muestras auténticas.

Las auxinas endógenas fueron analizadas con la técnica modificada parcialmente de cromatografía de gases y espectrometría de masas reportada por Müller *et al.* (2002), utilizando el isótopo [13C6] AIA (CLM-1896-o; Cambridge Isotope Laboratories, Inc., Andover, MA, United States) como un estándar interno. El extracto de cada muestra fue evaporado hasta obtener la fracción seca y suspendido por 5 minutos en metanol al 80% (v/v), luego secado en un concentrador centrifuga. La auxina en el extracto fue trimetilsililado con N-metil-N-trimetilsilil-trifluoroacetamida (MSTFA) a 80 °C durante 30 minutos. Las muestras fueron liofilizadas por 24 horas y luego disueltas en hexano. Cada alícuota fue inyectada a una cromatografía de gases y espectrometría de masas GC-QqQ MS (7890a-5975b; Agilent, Santa Clara, CA, United States) integrada con una columna de vidrio salinizada DB-5 (30 m × 0.25 mm × 0.10 µm; Agilent, Santa Clara, CA, United States). La temperatura de inyección e interfase se mantuvo a 260 °C y 280 °C respectivamente. El gradiente de temperatura en la columna se mantuvo a 80 °C por 2 minutos, luego se incrementó a 6 °C por min-1 hasta alcanzar 250 °C, seguido de 20 °C por min -1 hasta alcanzar 300 °C. La molécula endógena de AIA fue identificada con el diagnóstico comparativo de muestra del tejido y el ión de isótopo [13C6] AIA referido anteriormente (Müller *et al.*, 2002).

Los extractos de muestras para el análisis de citoquininas fueron purificados con la técnica de Nandí *et al.* (1990) ilustrada en la figura 4. La fracción extraída fue diluida en etanol (50 %) y pasada por una columna Dowex 50 WX8 (2.5 x 13 cm), lavada con 250 mL de etanol + 150 mL de agua purificada. Esta combinación fue descartada a temperatura de 6 °C y las citoquininas presentes fueron eluidas con 50 mL 1N y 250 mL 3N de solución de amoníaco. Estas fracciones se integraron y fueron secadas en evaporador rotativo. Luego, la muestra fue recogida en metanol (20%) y alícuotas fueron pasadas a través de una columna HPLC OSD-2 (10 mm de diámetro interno x 150 mm). Las citoquininas fueron eluidas con metanol (80 %) y ácido acético (5 %). Estas fracciones de citoquininas permitiladas se identificaron y compararon con el estándar zeatina y zearina-R utilizando un cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas (GC-MS, QP-5000; Shimadzu Inc., Kyoto, Japón) para el análisis de monitorización de iones selectivos (SIM) con una columna capilar de sílice fundida (CBP1, 0,22 mm i.d. x 25 m; Shimadzu Inc., Kyoto, Japón) según Watanabe *et al.* (2008).

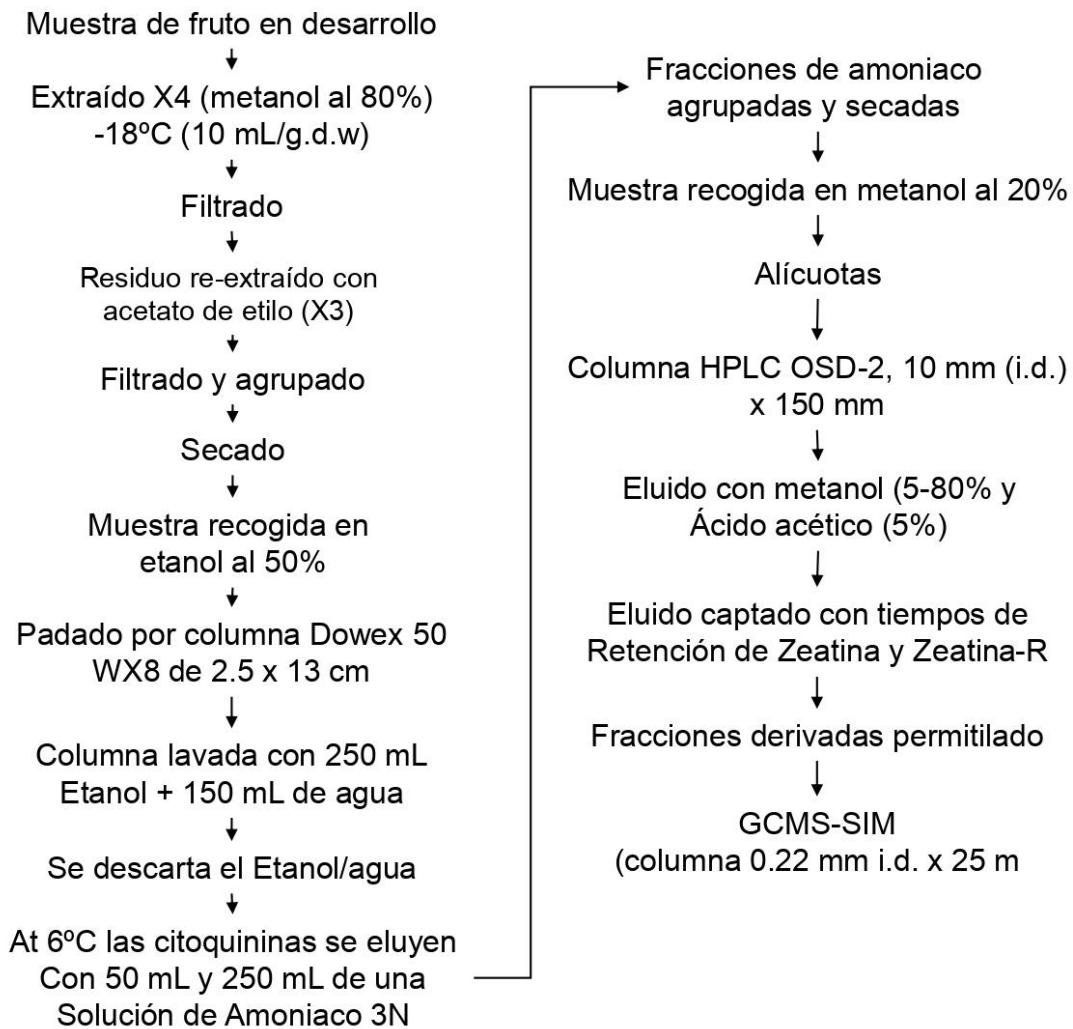


Figura 4. Diagrama de flujo del procedimiento para la extracción y purificación de extractos de frutos en desarrollo de frambuesa para citoquininas utilizando HPLC y GCMS-SIM

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Giberelinas.

El análisis de la espectrometría de masas se centró en la fragmentación de iones prominentes en el pico correspondiente al tiempo de retención de las giberelinas auténticas (Ramírez *et al.*, 2018). El cuadro 3 muestra el índice de retención en kovats (KRI) y su patrón de fragmentación e intensidad relativa para las giberelinas biológicamente activas e inactivas encontradas en el tejido del fruto de frambuesa. Se observó la presencia de las giberelinas biológicamente inactivas A₄₄ y A₅₃ en la fracción del 10 % de acetato de etilo/n-hexano; con un KRI de 2417 y 2512 kovats respectivamente. Las giberelinas biológicamente activas A₄ y A₇ se identificaron en la fracción del 20 %. Estas hormonas endógenas mostraron un KRI de 2488 y 2416 kovats respectivamente.

Cuadro 3. Índice de retención (Kovats) de giberelinas en frutos de frambuesa cv. UANC-2022

Giberelina	KRI ^a	Patrón de fragmentación e intensidad relativa (%)
GA ₄	2488	[418 (21), 403 (2), 400 (12), 386 (25), 284 (100)]
GA ₇	2416	[416 (10), 193 (12), 179 (5), 155 (13)]
GA ₄₄	2417	[492 (26), 293(81), 251(26), 238(5), 209 (100), 207 (90), 193 (11)]
GA ₅₃	2512	[432 (52), 251 (7), 238 (42), 207 (100), 193 (10), 180 (12)]

^aKovats, media de tres réplicas.

La identificación de las giberelinas A₄, A₇, A₄₄ y A₅₃ en los frutos de frambuesa (Cuadro 3) puede contribuir a enriquecer el conocimiento de estas hormonas en su crecimiento y desarrollo. La presencia de giberelinas A₄ y A₇ en el fruto puede reflejar la importancia de estas hormonas en el proceso de su crecimiento como lo señalan varios autores (Wu *et al.*, 2024; Alghonmeen *et al.*, 2020, Tombegavani *et al.*, 2020). Está bien establecido que cuando se aplican GA₄ y GA₇ exógenas ambas hormonas estimulan el crecimiento del fruto en tomate, pimiento, pera y otros cultivos (Zhang *et al.*, 2024; Ramírez *et al.*, 2016; Bakrim, 2007). Las giberelinas A₄ y A₇ son hormonas endógenas que se desplazan por diferentes órganos de la planta; mientras que las giberelinas A₄₄ y A₅₃ se clasifican como

hormonas biológicamente inactivas (Alghonmeen *et al.*, 2020; Tombegavani *et al.*, 2020; Ramírez *et al.*, 2018).

La identificación de las giberelinas A₄, A₇, A₄₄ y A₅₃ en esta investigación y reportes previos (Tombegavani *et al.*, 2020; Pichardo-González *et al.*, 2018), permiten hipotetizar sobre el grado en que las giberelinas pudieran estar involucradas en la fase de crecimiento del fruto de la frambuesa. La tasa de hidroxilación se ha relacionado con el movimiento de las giberelinas dentro de la planta (Ramírez *et al.*, 2018). La inyección de giberelinas marcadas a tejido de frutos intactos ha demostrado que cierto grado de hidroxilación es necesario para su movimiento. La GA₅₃ es una hormona inmóvil (Ramírez *et al.*, 2018); mientras que, la GA₃ (Ramírez *et al.*, 2016; Pichardo-González *et al.*, 2018) y la GA₄ (Cuadro 3) se desplazan del fruto al tejido del dardo en manzano (Ramírez *et al.*, 2016). Por lo tanto, es posible que las giberelinas A₄₄ y A₅₃ se encuentren inmovilizadas debido a su falta de hidroxilación. Se sabe que la [3H]-GA₄ se desplaza fuera de los frutos hacia el brote del dardo sin ser hidroxilada (Ramírez *et al.*, 2018). Por lo tanto, sobre la base de estos resultados, es posible que las giberelinas más altamente hidroxiladas GA₄ y GA₇ (Ramírez *et al.*, 2021; Pichardo-González *et al.*, 2018; Singkaew *et al.*, 2018) pudieran tener un rol en el proceso de crecimiento de la frambuesa; mientras que las giberelinas A₄₄ y A₅₃ al carecer de hidroxilación, parecen no participar en el proceso referido al compararlas con las GA₄ y GA₇ que poseen más grupos hidroxilo (Cuadro 3). Por lo tanto, la presencia de una gama de giberelinas identificadas en el fruto de frambuesa abre nuevas posibilidades para explicar la forma en que pueden ejercer su efecto durante el crecimiento y desarrollo del fruto de frambuesa.

Auxinas.

La presencia de la auxina ácido indol acético (AIA) fue detectada en el tejido del fruto de frambuesa en desarrollo. Esta hormona fue primeramente identificada a través del escaneo al ser comparada con la referencia del isótopo [¹³C₆] AIA (Figura 5) y posteriormente en la cromatografía de gases y espectrometría de masas refiriendo su espectro de masas con el estándar de la auxina señalada

(Figura 6). La molécula del ácido indol acético mostró un máximo de 197 de rango de masa y una intensidad relativa del 100 % (Figura 6). La presencia de auxinas en frutos en desarrollo ha sido reportada en drupas como ciruelo, chabacano y durazno (DeJong, 2022; Gharesheikhbayat y Pirkhezri, 2022) y en pomáceas como manzano (Busatto *et al.*, 2022; Griffith *et al.*, 2022).

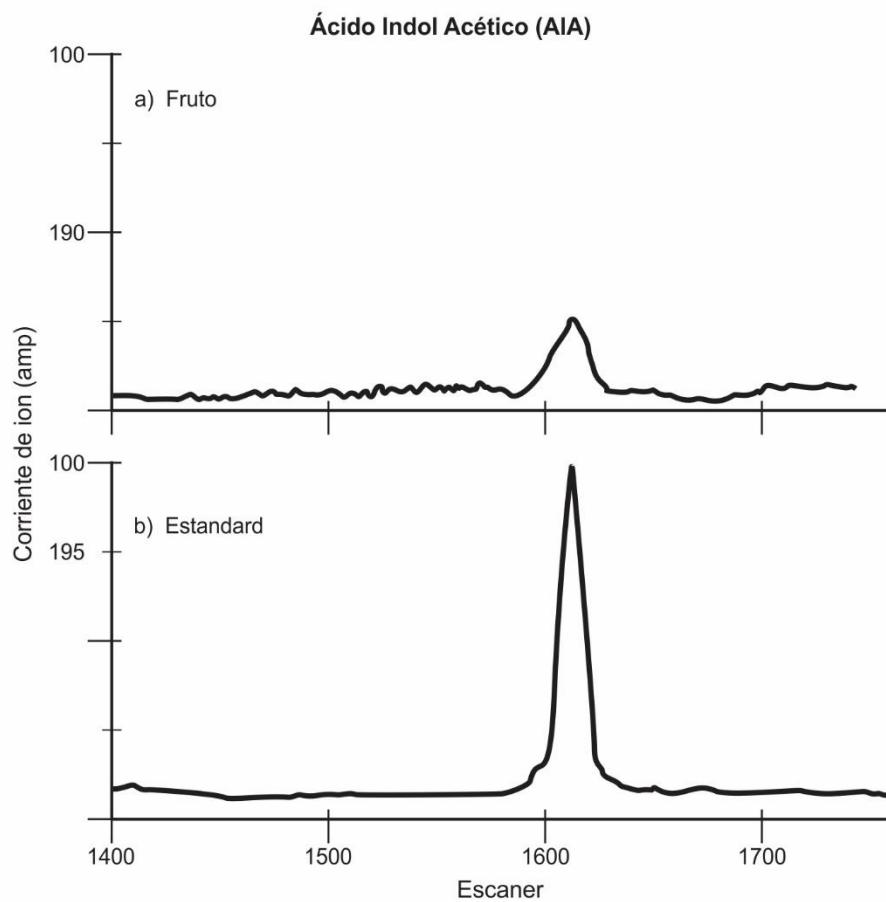


Figura 5. Cromatograma del ion escáner de ácido indol acético en fruto de frambuesa cv. UANC-2022 (a) y su comparativo con el isótopo [13C6] AIA estándar (b). Cada pico representa la media de tres replicas.

Las auxinas contribuyen a mejorar la calidad de fruta cosechada y conservar su calidad comestible en poscosecha (Morales-Payan, 2022). Además, estas hormonas juegan un papel crucial en la prevención de la caída prematura de los frutos (Dong *et al.*, 2024). El ácido indol acético es la molécula que con mayor frecuencia es identificada en esas especies y se relaciona como un estimulante del crecimiento del fruto en su primera fase (Costa y Botton, 2022; Bu *et al.*, 2020). Lo anterior refleja la importancia de esta hormona endógena que también podría ejercer un rol fisiológico durante el crecimiento y desarrollo inicial del fruto de framboesa.

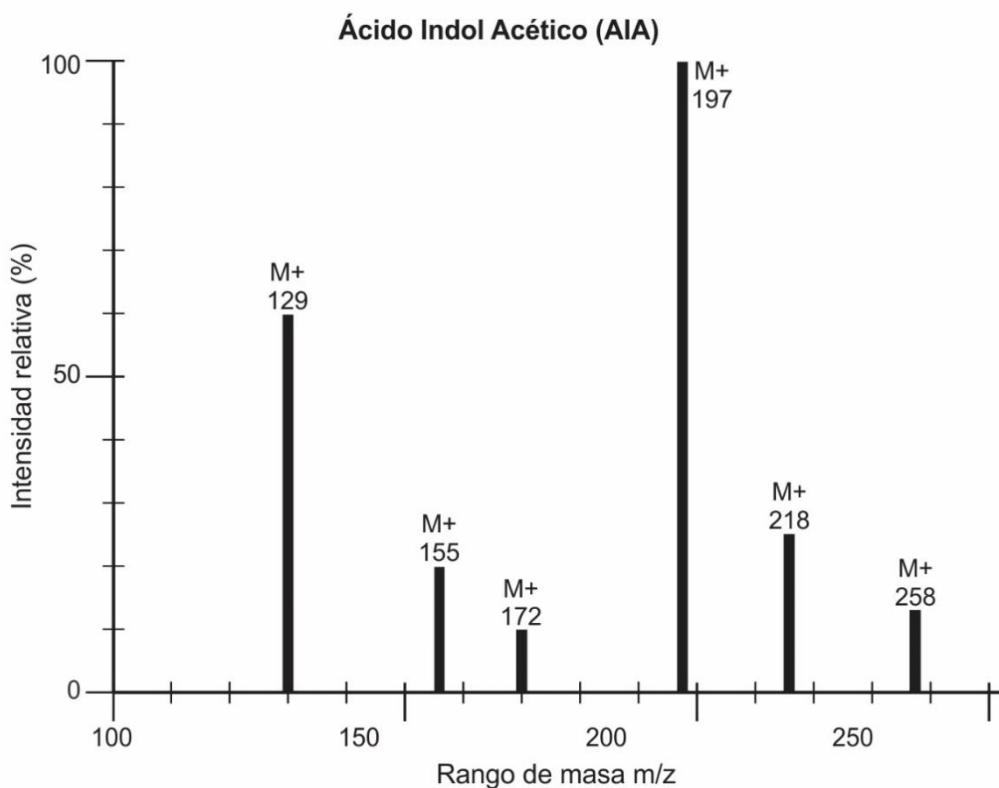


Figura 6. Espectro de masas para ácido indol acético (AIA) presente en frutos de framboesa cv. UANC-2022. Datos representan la media de tres réplicas.

Citocininas.

La presente investigación en framboesa resultó en la identificación de las citocininas endógenas zeatina (Z) y zeatina-ribósido (ZR). El espectro de masas de ambas moléculas se ilustra en las figuras 7 y 8 respectivamente.

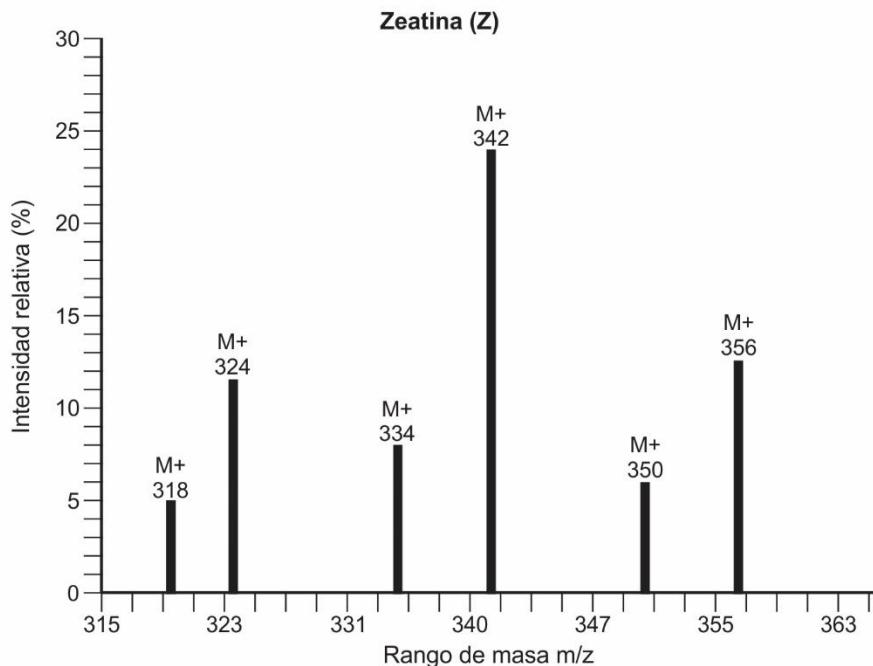


Figura 7. Espectro de masas para zeatina (Z) presente en frutos de fresa cv. UANC-2022. Datos representan la media de tres réplicas.

La presencia de estas hormonas vegetales endógenas fue evidente y auténtica al comparar su espectro de masas con el estándar correspondiente durante el proceso de análisis con la cromatografía de gases y espectrometría de masas. La molécula de zearina mostró un máximo de 342 de rango de masa y una intensidad relativa del 24 % (Figura 7); mientras que en la zearina ribósido se observó un rango máximo de masa de 339 a una intensidad del 25 % (Figura 8). La posible participación de las citocininas endógenas en el proceso de crecimiento del fruto en fresa no es concluyente. Wang *et al.* (2024), menciona que las citoquininas juegan un papel clave en la proliferación celular del desarrollo de los frutos. El uso de citocininas exógenas estimula el crecimiento del fruto en chile jalapeño y chile habanero (Ramírez *et al.*, 2016; Honda *et al.*, 2017). Aremu *et al.* (2020) reportaron incrementos en el rendimiento y la calidad de frutos cuando se aplican citocininas exógenas a varias especies frutales. Existe evidencia que las citocininas estimulan el crecimiento de la fruta cuando se presenta una deficiencia en la función fisiológica de la semilla (Ding *et al.*,

2013). Matsuo *et al.* (2012) establecieron el papel de la regulación de las citocininas en el desarrollo del fruto. Los hallazgos de Z y ZR en este estudio se ven respaldados por los informes de Emery *et al.* (2000) quienes encontraron cis-zeatina, trans-zeatina y zeatina-ribósido durante el desarrollo del fruto en el altramuz blanco y por Rijavec y Dermastia (2010), quienes señalaron la importancia de estas citocininas en el desarrollo de sus frutos. Los resultados de este estudio y los reportes de otros autores son prometedores (Miransari y Smith, 2014; Sansavini *et al.*, 2019), sin embargo, más investigación es requerida sobre la presencia de citocininas y su rol en el proceso de crecimiento y desarrollo del fruto en frambuesa.

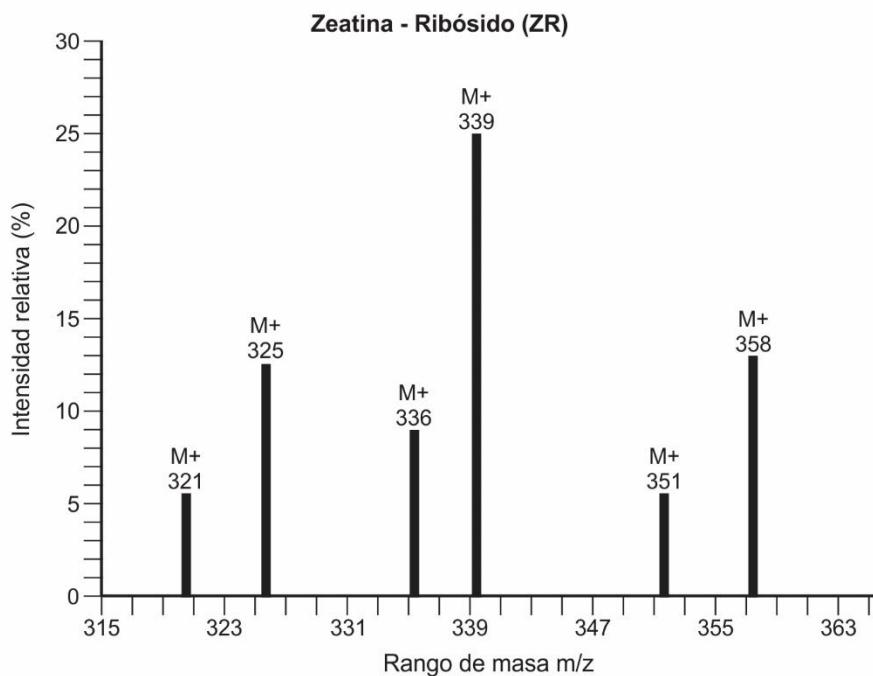


Figura 8. Espectro de masas para zeatina ribósido (ZR) presente en frutos de frambuesa cv. UANC-2022. Datos representan la media de tres réplicas.

CONCLUSIÓN

Las siguientes hormonas endógenas fueron identificadas en frutos de frambuesa cv. UANC-2022 utilizando la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas: giberelinas A₄, A₇, A₄₄ y A₅₃; la auxina ácido indol acético y las citocininas zeatina y zeatina ribósido. Estos resultados ofrecen la ruta para estudios futuros y dirigidos hacia como las giberelinas auxinas y citocininas están directamente involucradas en el desarrollo del fruto en frambuesa.

REFERENCIAS

- Aguilar M., Melgarejo L. M. y M. Romero. 2010. Fitohormonas. 39-63 pp. In: Megarejo L. M. (Ed.). Experimento en fisiología vegetal. Departamento de biología. Universidad de Colombia. Bogotá, Colombia. 277 p.
- Alcántara-Cortes J. S., Acero-Godoy J., Alcántara-Cortés J. D. y R. M. Sánchez-Mora. 2019. Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *Nova*. 17(32):109-129. Doi:10.25058/24629448.3639
- Alghonmeen O., Al-sharafa K., Allimoun M., Khleifat K., Al-Dein E. y E. A. Al-ramamneh. 2020. Assesment of exogenous application of plant growth regulators on Crees seed germination and β -Galactosidase activity. *Plant Science Today* 7:257-263. Doi:10.14719/pst.2020.7.2.743
- Aremu A. O., Fawole O. A., Makunga N. P., Masondo N. A., Moyo N. A. ... y N. M. D. Buthelezi. 2020. Applications of cytokinins in horticultural fruit crops: Trends and future prospects. *Biomolecules*. 10(9): 2-68. Doi:10.3390/biom10091222
- Bakrim A., Lamhamdi M., Sayah F. y F. Chibi. 2007. Effects of plant hormones and 20-hydroxyecdysone on tomato (*Lycopersicum esculentum*) seed germination and seedlings growth. *African Journal of Biotechnology*. 6(2):2792-2802. Doi:10.5897/AJB2007.000-2446
- Benková E., Michniewicz M., Sauer M., Teichmann T., Seifertová D., Jürgens G. y J. Friml. 2003. Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell*. 115(5):591-602.
- Beyá-Marshall V., Guzmán D., Valdés C., Vera C. y G. Reginato. 2022. Effect of auxin sprays on 'French Prune' plum fruit size and yield efficiency under different source/sink ratio. *Acta Horticulturae*. 1346: 455-462 Doi: 10.17660/ActaHortic.2022.1346.58
- Bryla D. R., Kaufman D. y B. Strik 2008. Effects of irrigation method and level of water application on fruit size and yield in red raspberry (*Rubus idaeus* L.) during the first year of full production. *HortScience*. 43(1112): 10-1016.
- Bu H., Yu W., Yuan H., Yue P., Wei Y. y Y. Wang. 2020. Endogenous auxins content contributes to larger size of apple fruit. *Frontier Plant Science*. 11:1-11. Doi:10.3389/fpls.2020.592540
- Busatto N., Moretto M., Farnetti B., Populin F., Vrhovsek U., ... y M. Comisso. 2022. Auxin is part of the regulatory circuit that sustains the ripening initiation in apple fruit. *Acta Horticulture*. 1344: 203-210.

- Castro-Camba R., Sánchez C., Vidal N. y J. M. Vielba. 2022. Plant development and crop yield: The role of gibberellins. *Plants.* 11(19):2650. Doi: 10.3390/plants11192650
- Cisternas E., France A. y L. Devolto. 2000. Insectos, ácaros y enfermedades asociadas a la frambuesa. Boletín INIA N°37, Instituto de Investigaciones Agropecuarias-(INIA). Providencia, Santiago de chile, chile. 159 p. <https://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/20.500.13082/32166>
- Costa G. y A. Botton. 2022. Plant bioregulators: do we still need them?. *Acta Horticulturae* 1344:193-202.
- DeJong T. M. 2022. Understanding factors influencing peach fruit development and growth. *Acta Horticulture* 1352:55-62. Doi: 10.17660/ActaHortic.2022.1352.7
- Ding J., Chen B., Xia X., Mao W., Shi K., ... y Y. Zhou. 2013. Cytokinin-induced parthenocarpic fruit development in tomato is partly dependent on enhanced gibberellins and auxin biosynthesis. *PLOS One.* 8(7):1-11. Doi: 10.1371/journal.pone.0070080
- Dong X., Liu X., Cheng L., Li R., Ge S., Wang S., ... y T. Xu. 2024. SIBEL11 regulates flavonoid biosynthesis, thus fine-tuning auxin efflux to prevent premature fruit drop in tomato. *Journal of Integrative Plant Biology.* Doi: 10.1111/jipb.13627
- Emery R. N., Qifu M. y C. A. Atkins. 2000. The forms and sources of cytokinins in developing white Lupine seeds and fruits. *Plant Physiology.* 123(4):1593-1604. Doi: 10.1104/pp.123.4.1593
- Enders T. A. y L. C. Strader. 2015. Auxin activity: Past, present, and future. *American journal of botany.* 102(2):180-196. Doi: 10.3732/ajb.1400285
- Fahad S., Hussain S., Matloob A., Khan F. A., Khalil A., Saud S., ... y J. Huang. 2015. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. *Plant growth regulation.* 75:391-404. Doi:10.1007/s10725-014-0013-y
- Feng J., Shi Y., Yang S. y J. Zuo. 2017. Cytokinins. 77-106 pp. In: Rowley C. (Ed.). Hormone Metabolism and Signaling in Plants. Academic Press, London. 598 p. Doi:10.1016/B978-0-12-811562-6.00003-7.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2022. Food and agricultura data. In: <https://www.fao.org/faostat/en/#home> (Fecha de consulta: 14 de marzo 2024).
- Friml J. 2003. Auxin transport—shaping the plant. *Current opinion in plant biology.* 6(1):7-12. Doi: 10.1016/S1369526602000031

- Fukazawa J., Ohashi Y., Takahashi R., Nakai K. y Y. Takahashi. 2021. DELLA degradation by gibberellin promotes flowering via GAF1-TPR-dependent repression of floral repressors in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*. 33(7):2258-2272. Doi:10.1093/plcell/koab102
- Gaitán Á., Rivillas C. A., Castro-Caicedo B. L. y M. A. Cristancho-Ardila. 2013. Manejo integrado de enfermedades. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Bogotá, Colombia. 143–178 pp. Doi10.38141/cenbook-0026_22
- Gallego G. L. M. 2008. Efecto de la sobreexpresión y del silenciamiento de genes del metabolismo de giberelinas sobre el desarrollo de Tabaco. Tesis de doctorado. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España. 114 p. <http://hdl.handle.net/10251/2303>
- García J., García G. y M. Ciordia. 2014. El cultivo del frambueso. Servicio regional de investigación y desarrollo agroalimentario. Asturias, España. 76 p. <https://bibliotecadigital.ciren.cl/handle/20.500.13082/147849>
- Gaspar T., Kevers C., Faivre-Rampant O., Crèvecoeur M., Penel C., Greppin H. y J. Dommes. 2003. Changing concepts in plant hormone action. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 39(2):85–106. Doi:10.1079/ivp2002393
- Gharesheikhbayat R. y M. Pirkhezri. 2022. Evaluation of side effects of growth regulators as anti-frost in apricots and plums on fertility characteristics. *Acta Horticulture*. 1344: 17-22. Doi: 10.17660/ActaHortic.2022.1344.4
- González M. E. y M. H. Johnson. 2015. Anthocyanins from berries: Chemistry and roles in inflammation and diabetes. University of Illinois, Division of Nutritional Sciences. Urbana, IL, 61802, USA. 15 p.
- González-Ramírez M. G., Santoyo-Cortés V. H., Arana-Coronado J. J. y M. Muñoz-Rodríguez. 2020. The insertion of Mexico into the global value chain of berries. *World Development Perspectives*. 20():100240–. Doi: 10.1016/j.wdp.2020.100240
- Griffith C., Beaudry R. y T. Einhorn. 2022. Auxins promote vascular function and reduce bitter pit of Honey crisp apples. *Acta Horticulture* 1344: 65-71. Doi: 10.17660/ActaHortic.2022.1344.10
- Hedden P., Phillips A. L., Rojas M. C., Carrera E. y B. Tudzynski. 2002. Gibberellin biosynthesis in plants and fungi: A case of convergent evolution?. *Jurnal Plant Growth Regulators*. 20: 319-331. Doi: 10.1007/s003440010037.
- Honda I., Matsunaga H., Kikuchi K., Matuo S., Fukuda M. y S. Imanishi. 2017. Involvement of cytokinins, 3-indoleacetic acid and gibberellins in early fruit growth pepper (*Capsicum annuum* L.). *The Horticulture Journal*. 86(1):52-60. Doi: 10.2503/hortj.MI-120

- Hudson J. P. 1959. Effects of Environment on Rubus Idaeus L.: I. Morphology and Development of the Raspberry Plant. *Journal of Horticultural Science*. 34(3):163–169. Doi:10.1080/00221589.1959.11513955A.
- Jennings D. L., Daubeny H. A. y J. N. Moore. 1991. BLACKBERRIES AND RASPBERRIES (*RUBUS*). *Acta Horticultae*, (290):331–392. Doi:10.17660/actahortic.1991.290.8
- Kalra G. y S. C. Bhatla. 2018a. Gibberellins. 559-568 pp. In: Plant Physiology, Development and Metabolism. Springer, Singapore. 899 p. Doi: 10.1007/978-981-13-2023-1_14.
- Kalra G. y S. C. Bhatla. 2018b. Cytokinins. 617-628 pp. In: Plant Physiology, Development and Metabolism. Springer, Singapore. 899 p. Doi: 10.1007/978-981-13-2023-1_16.
- Kazakov I. V. y S. N. Evdokimenko. 2010. Producing ability of everbearing raspberry cultivars in Bryansk Region. *Sadovodstvo i Vinogradarstvo*, (2): 21-22.
- Kieber J J. y G. E. Schaller. 2014. Cytokinins. *The Arabidopsis Book*, 12():e0168–. Doi:10.1199/tab.0168
- Kieber J. y E. Schaller. 2018. Cytokinin signaling in plant development. *Development*. 145(4): dev149344–. Doi:10.1242/dev.149344
- Kosiński P., Czarna A. y T. Maliński. 2013. *Rubus occidentalis* (Rosaceae) – a new naturalized raspberry species in the Polish flora. *Dendrobiology*. 71:159–165. Doi:10.12657/denbio.071.016
- Lagunes-Fortiz E. R., Lagunes-Fortiz E., Gómez-Gómez A. A., Leos-Rodríguez J. A. y J. M. Omaña-Silvestre. 2020. Competitividad y rentabilidad de la producción de frutillas en Jalisco. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 11(8):1815-1826.
- Linnemannstöns, L. 2020. Substrate cultivation of raspberry in Germany. *Acta Horticultae*. (1277): 165–172. Doi:10.17660/ActaHortic.2020.1277.24
- López-Lauri F. 2016. Plant growth regulators. 125 - 139 pp. In: Wasim M., Ayala J. y C. Hwang (Ed). Postharvest Management Approaches for Maintaining Quality of Fresh Produce. Springer Cham, Bhagalpur, Bihar, India. 222 p. Doi: 10.1007/978-3-319-23582-0_8.
- Martínez N. 2010. Manejo integrado de plagas: una solución a la contaminación ambiental. *Comunidad y salud*. 8(1):073-082.
- Matsuo S., Kikuchi K., Fukuda M., Honda I. y S. Imanishi. 2012. Roles and regulation of cytokinins in tomato fruit development. *Journal of Experimental Botany*. 63(15):5569-5579. Doi: 10.1093/jxb/ers207

- Miransari M. y D. L Smith. 2014. Plant hormones and seed germination. *Environmental and experimental Botany*. 99:110-121.
- Montri N., Saenpakdee S. y R. Deewatthanawong. 2023. The effect of auxins on root production and stemona alkaloid accumulation in *Stemona curtisii* Hook.f. in vitro culture. *Acta Horticulturae*. 1358: 267-274. Doi: 10.17660/ActaHortic.2023.1358.35
- Morales A. C. G. 2009. Frambueso (*Rubus idaeus* L.), morfología y clasificación. Informativo INIA Raihuén, no. 34. Villa Alegre, Chile. 2 p. <https://hdl.handle.net/20.500.14001/4310>
- Morales-Payan J. P. 2022 Effects of bioregulators and storage temperature on the postharvest preservation of the tropical fruit (*melococcus bijugatus*). *Acta Horticulture* 1344: 249 - 252.
- Müller A., Düchting P. y E. W. Weiler. 2002. A multiplex GC-MS/MS technique for the sensitive and quantitative single-run analysis of acidic phytohormones and related compounds, and its application to *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 216:44-56. Doi: 10.1007/s00425-002-0866-6
- Nandi S. K., Palni L. M. S. y C. A. W. Parker. 1990. Dynamics of endogenous cytokinins during the growth cycle of a hormone-autotrophic genetic tumor line of tobacco. *Plant Physiology*. 94:1084-1089.
- Nevins D. J. 1995. Perspectives on the use of plant bioregulators in vegetable crop production. *Acta Horticulturae*, 394: 25–36. Doi:10.17660/actahortic.1995.394.2
- Nievas W. E., Villarreal P., Caminiti A., Lochbaum T., Rodriguez A. B., Lago J. ... y L. Claps. 2023. El cultivo de la frambuesa: aspectos agroambientales y económicos para el Alto Valle de Río Negro y Neuquén. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires, Argentina. 129 p.
- Pichardo-González J. M., Guevara-Olvera L., Covoh-Uicab Y., González-Cruz L., Bernardino-Nicanor A., Medina H. R., et al. 2018. Effects of gibberellins on the yield of jalapeño pepper (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 9(5): 925-934.
- Privé J. P., Sullivan J. A., Proctor J. T. A. y O. B. Allen. 1993. Climate influences vegetative and reproductive components of primocane-fruited red raspberry cultivars. *Journal of the American society for horticultural science*, 118(3):393-399.
- Ramírez H., Alvizo-Medrano B. Y., Melendres-Álvarez A. I., Jasso-Cantú D., Villarreal-Quintanilla J.A. y R. Rodríguez-García. 2018. Pomological characteristics and gibberellins identification on Golden Delicious Apple mutants. *Acta Horticulture*. 1206:43-50.

- Ramírez H., Macías-Castillo U. A., Melendres-Álvarez A. I., Castillo-Robles M. C., Zermeño-González A., Jasso-Cantú D., et al. 2021. Endogenous hormones in habanero pepper seeds. *International Journal of Plant & Soil Science*. 33(12):9-18.
- Ramírez H., Zavala-Ramírez M.G., Sánchez-López A., Aguilar-Zarate P., Cristóbal-Aguilar N., Rodríguez-García R., et al. 2016. Tomato responses to biorregulators grown under greenhouse conditions. *International Journal of Plant & Soil Science* 10(6):1-13.
- Rijavec T. y M. Dermastia. 2010. Cytokinins and their function in developing seeds. *Acta Chime Slovenia* 57:617-629.
- Rolbiecki S., Rolbiecki R., y C. Rzekanowski. 2001. Effect of micro-irrigation on the growth and yield of raspberry (*Rubus idaeus* L.) cv.'Polana'grown in very light soil. *Acta Horticulturae*. 585: 653-657. Doi: 10.17660/ActaHortic.2002.585.108
- Sansavini S., Costa G., Gucci G., Inglese P., Ramina A. ... y C. Xiloyannis. 2019. Principles of modern fruit science-the ultimate textbook: understanding the fundamentals of plant science. International Society for Horticultural Science. Leuven Belgium. 421 p.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). 2021. Crece a doble dígito de producción y exportación de frambuesas mexicanas. In: <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/crecen-a-doble-digito-produccion-y-exportacion-de-frambuesas-mexicanas> (Fecha de consulta 20 de noviembre de 2021)
- Singkaew J., Nishijima T. y S. Photchanachai. 2018. Effects of tomato seed maturity on seed quality and endogenous hormones. *Acta Horticulturae* 1208:355-362. Doi: 10.17660/ActaHortic.2018.1208.48
- Snir I. 1988. Red Raspberry (*Rubus idaeus*). 124 – 141 pp. In: Bajaj Y. P. S. (Ed). Biotechnology in Agriculture and Forestry. Volume 6. Springer, Berlin, Heidelberg. 578 p. Doi:10.1007/978-3-642-73520-2_4
- Sobczykiewicz D. 1992. Micropropagation of Raspberry (*Rubus idaeus* L.). 339 – 353 pp. In: Bajaj Y. P. S. (Ed). High-Tech and Micropropagation II. Volume 18. Springer Berlin, Heidelberg. 509 p. Doi:10.1007/978-3-642-76422-6_18
- Sponsel V. M. y P. Hedden. 2004. Gibberellin biosynthesis and inactivation. 63-94 pp. In: Davies P. (Ed). Plant Hormones: biosynthesis, signal transduction, action. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 802 p.
- Srivastava A. K., Pasala R., Minhas P. S. y P. Suprasanna. 2016. Plant bioregulators for sustainable agriculture: integrating redox signaling as a possible unifying mechanism. *Advances in agronomy*. 137:237-278. Doi: 10.1016/bs.agron.2015.12.002

- To J. P. y J. J. Kieber 2008. Cytokinin signaling: two-components and more. *Trends in plant science*. 13(2): 85-92. Doi: 10.1016/j.tplants.2007.11.005
- Tombegavani S. S., Zahedi B., Fard S. M. y A. Ahmadpour. 2020. Response of germination and seedling growth of pepper cultivars to seed priming by plant growth regulators. *International Journal of Horticultural Science and Technology*. 7(1):59-68. Doi: 10.22059/ijhst.2020.274293.275
- Wang H., Sha G., Gao R., Pang J., Zhai R., Yang C. ... y L. Xu. 2024. PbGIF1 promoting cell-proliferation in pear fruit is transcriptionally activated by PbRR1. *Horticultural Plant Journal*. 10(3): 689-697. Doi: 10.1016/j.hpj.2022.09.011
- Watanabe M., Bessho H., Suzuki A. y S. Komori. 2008. Seasonal changes of IAA and cytokinin in shoots of columnar type apple trees. *Acta Horticulturae*. 774:75-80. Doi: 10.17660/ActaHortic.2008.774.8
- Weber C. A., Maloney K. E. y J. C. Sanford. 2004. Prelude'everbearing raspberry. *HortScience*. 39(3): 633-634.
- Woodward A. W. y B. Bartel. 2005. Auxin: regulation, action, and interaction. *Annals of botany*. 95(5): 707-735. Doi: 10.1093/aob/mci083
- Wu M., Liu K., Li H., Li Y., Zhu Y., Su D. ... y M. Liu. 2024. Gibberellins involved in fruit ripening and softening by mediating multiple hormonal signals in tomato. *Horticulture Research*, 11(2): uhad275. Doi: 10.1093/hr/uhad275
- Yue J., Hu X. y J. Huang. 2014. Origin of plant auxin biosynthesis. *Trends in plant science*. 19(12): 764-770. Doi: 10.1016/j.tplants.2014.07.004
- Zhang H., Dai P., Gao X., Li H., Zhai R., Yang C. ... y L. Xu. 2024. Gibberellin acid 4 and 7 increase indole-3-acetic acid production and induce cell division via PbCRF4-mediated activation of PbYUCCA6 expression in 'Dangshansu'pear. *Scientia Horticulturae*. 327: 112858. Doi: 10.1016/j.scienta.2024.112858