

**EL USO DE PROHEXADIONA DE CALCIO, 6-BENCIL AMINO
PURINA Y 6-FURFURIL ADENINA COMO ALTERNATIVA PARA
EL CONTROL DE CRECIMIENTO EN *Malus domestica* B. CV.
GOLDEN DELICIOUS**

JOSÉ CLEMENTE SÁNCHEZ CANSECO

TESIS

Presentada como requisito parcial para
obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México
Junio 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
SUBDIRECCION DE POSGRADO

EL USO DE PROHEXADIONA DE CALCIO, 6-BENCIL AMINO PURINA Y 6-FURFURIL ADENINA COMO ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE CRECIMIENTO EN *Malus domestica* B. CV. GOLDEN DELICIOUS

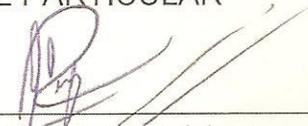
TESIS POR
JOSÉ CLEMENTE SÁNCHEZ CANSECO

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial, para optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal:



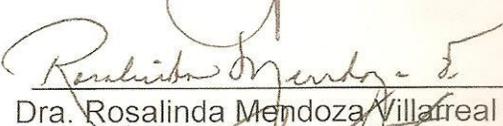
Dr. Homero Ramírez Rodríguez

Asesor:



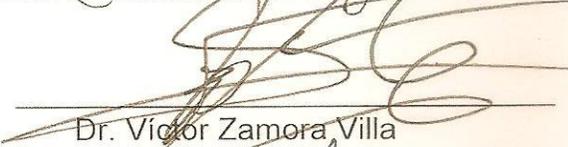
Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Asesor:



Dra. Rosalinda Mendoza Villareal

Asesor:



Dr. Víctor Zamora Villa



Dr. Fernando Ruiz Zárate
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Junio 2014

INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE FIGURAS	i
INTRODUCCION	1
Objetivos	5
Hipótesis	5
REVISION DE LITERATURA	6
Generalidades del cultivo del manzano	6
Importancia económica	6
Origen	6
Descripción morfológica	7
Bianualidad o alternancia	7
Inducción floral	8
Periodo de inducción floral	9
Inhibición floral	9
Desarrollo floral	10
Inducción floral y bianualidad en manzano	11
Alternativas para reducir la bianualidad en manzano	12
Biorreguladores	14
Citocininas	15
Modo de acción	16
Prohexadiona de calcio	17
Modo de acción	18
Metabolismo	19
Antioxidantes	20
Vitamina C	21
Carotenoides	22

ARTICULO	24
CONCLUSIONES GENERALES	48
LITERATURA CITADA	49

INDICE DE FIGURAS

Figura. 1. Efecto de P-Ca sobre el crecimiento de ramas de manzano cv. Golden Delicious.	44
Figura. 2. Efecto de P-Ca y CKs sobre el peso del fruto de manzano cv. Golden Delicious.	45
Figura. 3. Efecto de P-Ca y Cks en el contenido de vitamina C en frutos de manzano cv. Golden Delicious.	45
Figura. 4. Efecto de P-Ca y CKs en el contenido de carotenoides en fruto de manzano cv. Golden Delicious.	46
Figura. 5. Efecto de P-Ca y CKs sobre la formación de inflorescencias en manzano cv. Golden Delicious.	47

AGRADECIMIENTOS

Primeramente quiero agradecer a **Dios**, por brindarme apoyo a lo largo de mi vida, por brindarme apoyo a cada momento.

Gracias a mis padres, por brindarme su apoyo incondicional, pues sin ellos no sería nada de lo que soy ahora. Gracias papá por tus consejos y tu fortaleza, gracias mamá por todo tu cariño y tu enorme paciencia.

Gracias a mi **Alma Mater**, por proporcionarme las herramientas necesarias para salir adelante en un mundo tan competitivo.

Gracias a **todos mis maestros**, por aportar una pequeña parte de su vasto conocimiento para mejorar mi aprendizaje.

Gracias al **Dr. Homero Ramírez**, por brindarme su apoyo y supervisión constante en este proyecto.

A **CONACYT**, por proporcionar el apoyo económico sin el cual no me hubiera sido posible realizar mi proyecto de aprendizaje.

DEDICATORIA

A mis padres:

Ramón Sánchez del Bosque

Georgina Canseco Díaz

A quienes debo toda mi vida, les agradezco el cariño y su comprensión, a ustedes quienes han sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos, valores y regaños, los cuales me han hecho dar lo mejor de mí.

A mis hermanos:

Ramón Sánchez Canseco

Carolina Sánchez Canseco

Por su cariño y apoyo.

A mis amigos: por su incesante compañía y apoyo, por estar conmigo en las buenas y en las malas.

Un poco de ciencia aleja de Dios, pero mucha ciencia devuelve a Él.

Louis Pasteur (1822-1895) Químico y microbiólogo francés.

COMPENDIO

EL USO DE PROHEXADIONA DE CALCIO, 6-BENCIL AMINO PURINA Y 6-FURFURIL ADENINA COMO ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE CRECIMIENTO EN *Malus domestica* B. CV. GOLDEN DELICIOUS.

POR

JOSÉ CLEMENTE SANCHEZ CANSECO

**MAESTRIA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA
UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Junio 2014

Dr. Homero Ramírez Rodríguez.-Asesor-

Palabras clave: *Malus domestica* B., prohexadiona de calcio, giberelinas, 6-bencil amino purina, 6-furfuril adenina

Es una realidad que el cambio climático ocasiona altibajos en la producción frutícola. Esto, como resultado de alteraciones en factores ambientales; entre los cuales la temperatura adversa extrema en la región frutícola del norte de México ocasiona trastornos en la fisiología de los árboles de manzano. El excesivo crecimiento vegetativo y reducción en formación de yemas florales destacan entre ellos. En este trabajo se evaluó el efecto de prohexadiona de calcio (P-Ca), 6-furfuril adenina y 6-bencil amino purina (CKs) sobre el crecimiento vegetativo y reproductivo en árboles de manzano cv. Golden delicious. El experimento se realizó en Arteaga, Coahuila, México. Los tratamientos fueron: P-Ca a dosis de 0, 150, 300 y 450 mg/L; 6-bencil amino purina + 6-furfuril adenina a concentraciones de 0, 150 y 300 mg/L y combinaciones entre ellas. Se utilizó un diseño completamente al azar con 12 repeticiones, con un diseño de tratamientos 4X3 donde los factores fueron P-Ca y 6-BAP+6-FA. Los parámetros evaluados fueron crecimiento vegetativo, determinación de peso, contenido de carotenoides y vitamina C en frutos maduros; y retorno floral.

P-Ca redujo notablemente el exceso de crecimiento vegetativo y estimuló el retorno floral del ciclo siguiente; además, incrementó el contenido de carotenoides y vitamina C en frutos. Las CKs aplicadas individualmente o combinadas con la P-Ca produjeron frutos de mayor peso y aumentaron el contenido de carotenos y vitamina C en ellos, además, incrementaron la formación de yemas florales.

ABSTRACT

**Use of prohexadione calcium, 6-benzyl amino purine and 6-furfuril adenine
as an alternative for growth control in *Malus domestica* B. cv. Golden
Delicious**

BY

JOSE CLEMENTE SANCHEZ

MASTER IN SCIENCES IN HORTICULTURE

Buenavista, Saltillo, Coahuila. June 2014

Dr. Homero Ramírez Rodríguez.-Adviser-

Key words: *Malus domestica* B., prohexadione-calcium, gibberelins, 6-benzyl amino purine, 6-furfuril adenine.

It is well established that weather change is altering yield in fruit trees. This adversity reflects among others, extreme temperature modifications in northern Mexico. This effect modifies negatively the physiology of apple trees, originating excessive shoot growth and a decrease in flower bud formation.

In this study, Prohexadione-Ca (P-Ca), 6-benzyl amino purine (6-BAP) and 6-furfuril adenine (6-FA) were evaluated on shoot and reproductive growth in Golden delicious apple trees in Arteaga Coahuila Mexico.

Treatments applied were: P-Ca at 0, 150, 300 and 450 mg/L; 6-BAP+6-FA at 0, 150 and 300 mg/L and combinations of them with P-Ca. A control (water) was also incorporated. A complete randomized design with 12 replicates using a 4X3 design with treatments where P-Ca and 6-BAP+ 6-FA were the factors. The parameters: shoot growth; fresh weight, vitamin C, and carotenoids content in fruit and return Bloom were evaluated. P-Ca drastically reduced shoot growth and increased return bloom. Carotenoids and vitamin C in fruits was increased with this retardant. Citoquinins applied individually or in combination with P-Ca caused increments on: flower bud formation, fruit weight; carotenoid and vitamin C in harvested fruits.

INTRODUCCION

El Manzano (*Malus domestica. Borkh*) es una planta de la familia Rosaceae, cultivado por su fruto apreciado como alimento.

Es de conocimiento general que el cambio climático es una de las principales causas de los altibajos en la producción de alimentos, condición que ha traído como consecuencia trastornos fisiológicos en árboles frutales reflejados con brotación deficiente, ausencia de flores, frutos pequeños, bajo cuajado de fruto, crecimientos vegetativos débiles o excesivos entre otros.

En el cultivo del manzano debe mantenerse un equilibrio entre las fases vegetativa y reproductiva; sin embargo, es frecuente que los errores de manejo de cultivo, como aplicaciones de bioquímicos inapropiados o condiciones de clima adversas alteren este balance, resultando en crecimiento vegetativo excesivo. El crecimiento vigoroso puede afectar de manera negativa la calidad de fruto, productividad y el control de plagas y enfermedades (Forshey et al., 1992).

Existen una amplia gama de métodos para mantener o reestablecer el balance entre las fases del manzano; destacan entre ellas: **a)** El uso de patrones enanizantes; **b)** la poda suave, evitando despuntes, a fin de evitar un exceso de

crecimiento; **c)** inclinación de ramas “ortofitia”; **d)** raleo de frutos temprano; **e)** fertilización nitrogenada balanceada; **f)** disminución del riego en el periodo de la inducción floral; **g)** uso de inhibidores de crecimiento; **h)** uso de citoquininas; **i)** anillado de ramas previo a la época de inducción floral; **j)** poda de raíces. En relación al anillado y la poda de raíces, algunos autores reportan que pueden ser medidas inadecuadas para ser aplicadas en manzanos, pues sus efectos secundarios negativos muchas veces son mayores que los beneficios perseguidos (Yuri et al., 2002).

El uso de biorreguladores presenta una variedad de beneficios en comparación con métodos tradicionales como la poda, entre ellos, es importante mencionar la reducción en el costo y tiempo que toma realizar dicha labor, otro beneficio implícito es la reducción de la propagación de enfermedades, por ejemplo tizón de fuego causado por el patógeno “*Erwinia amilovora*”.

Aunque los biorreguladores son una herramienta eficaz para el manejo de huertas, en ocasiones es necesaria la utilización conjunta de varias familias de estos compuestos, por ejemplo los antigeberélicos como prohexadiona de calcio (P-Ca) perteneciente a la familia química de las ciclohexanodionas y citoquininas como 6-Benzil amino purina (6-BAP) y 6-Furfuril adenina (6-FA) para lograr una productividad adecuada en la fruticultura actual.

La prohexadiona de calcio ha demostrado un efectivo control en el vigor vegetativo en arboles de manzano en EUA y en varios países de Europa. El crecimiento vegetativo se ve afectado por varios factores, incluyendo carga de

fruta, localidad, cultivar, portainjerto, edad, podas y sistema de tutoreo. La aplicación de P-Ca cuando los crecimientos del ciclo en curso alcanzan una longitud de entre 5 y 10 centímetros ha tenido un buen efecto en el control de este fenómeno.

P-Ca inhibe la biosíntesis de las giberelinas activas por ende reduce el crecimiento longitudinal de los crecimientos nuevos. La estructura de P-Ca es muy similar a la del ácido 2-oxoglutarico que es el cosustrato de las desoxigenasas involucradas en las fases tardías de la biosíntesis de las giberelinas. Por lo que una alta concentración de esta molécula en el citoplasma da lugar a una reducción en la tasa de síntesis de las giberelinas biológicamente activas A_1 , A_3 , A_4 y A_7 y por ende una acumulación de las giberelinas biológicamente inactivas A_{12} , A_{19} y A_{29} (Brown et al. 1997; Griggs et al. 1991 ; Hedden y Kamiya, 1997 ; Nakayama et al., 1990).

Las citoquininas están involucradas en varias fases del crecimiento y desarrollo de la planta, incluyendo: división celular, retraso de la senescencia, regulación de la dominancia apical y transmisión de señales nutricionales (Sakakibara, 2004).

Los tratamientos a base de citoquininas como 6-BAP y 6-Furfuril adenina (6-FA) pueden ser usados para superar la dominancia apical en arboles de manzana estimulando el crecimiento de brotes laterales (Faust, 1989).

La aplicación de 6-BAP ha incrementado efectivamente el desarrollo de brotes laterales en arboles de vivero (Hortko et al., 1997) y ha demostrado cierto

potencial para inducir el desarrollo de yemas florales en el cultivar de manzano Scifresh/M9 (Palmer et al., 2005).

OBJETIVOS

- Conocer los efectos que pudieran ejercer los reguladores de crecimiento: prohexadiona de calcio (P-Ca), 6-bencil amino purina (6-BAP) y 6-furfuril adenina (6-FA) en el control de crecimiento en manzano *cv.* Golden Delicious en la región de Jamé, Mpio. Arteaga Coahuila.

HIPOTESIS

- La aplicación de prohexadiona de calcio (P-Ca), 6-bencil amino purina (6-BAP) y 6-furfuril adenina (6-FA) producirán un efecto benéfico en el control del exceso en el crecimiento vegetativo, inducción floral, y calidad de fruto en manzano *cv.* Golden Delicious.

REVISION DE LITERATURA

Generalidades del cultivo de manzano

Importancia económica

En México la superficie de manzano cosechada es de 56,845 hectáreas alcanzado una producción de 630,533 Ton en 2011. Los principales estados productores son Chihuahua con 73% de la producción nacional, Durango con 11% y Coahuila que contribuye con 5% de la producción. El valor total de la producción es de aproximadamente 3,122 millones de pesos (SIAP, 2011).

En el estado de Coahuila, dentro de la fruticultura, el manzano ocupa el segundo lugar en cuanto a importancia económica, siendo superado solo por el nogal. En la entidad existen 7018 hectáreas con una producción de 37 mil toneladas reportadas oficialmente en 2011.

Origen del Manzano

Domesticado hace más de 15,000 años, su origen parece ser el Cáucaso y las orillas del Mar Caspio. Fue introducido en Europa por los romanos y posteriormente introducido a México por los conquistadores españoles. En la

actualidad existen unas 1,000 especies, como resultado de diferentes hibridaciones entre especies silvestres.

Descripción Morfológica

Es un árbol de tamaño mediano en un rango de 3 a 12 m de altura, caducifolio, de copa redondeada, abierta y numerosas ramas que se disponen casi en horizontal, con una vida productiva mayor a los 30 años. Posee hojas ovaladas, suavemente dentadas en los bordes y de fuerte color verde con pubescencia en el envés.

Las llamativas flores tienen una corona, pétalos blancos, redondeados, frecuentemente veteados de rojo o rosa, pedunculadas, surgen agrupadas en racimos de entre tres y seis unidades de las ramas jóvenes laterales formando corimbos. Son hermafroditas, con un cáliz de cinco sépalos y numerosos estambres amarillos. El manzano florece en primavera antes de la aparición anual de sus hojas. El fruto que se desarrolla a partir de este pedúnculo floral. De piel verde, amarilla o roja, es suave y brillante. Su pulpa es jugosa y dulce y contiene semillas. La manzana suele madurar hacia el otoño.

Bianualidad o Alternancia

La bianualidad, también conocida como alternancia afecta a una gran cantidad de frutales de clima templado entre los cuales se encuentran: olivo (*Olea*

europaea L.), peral (*Pyrus communis* L.), manzano (*Malus domestica* Borkh) y la nuez de castilla (*Juglans regia*) (Monselise y Goldschmidt, 1982).

En una forma sencilla se puede describir la bianualidad como un ciclo repetitivo de alta floración (año “on”) y producción seguido por un año de baja floración y producción (año “off”). Este fenómeno puede ser propiciado por una variedad de factores externos, como son las bajas temperaturas y manejo inadecuado de cultivo, la bianualidad también puede ser ocasionada por factores internos, como ejemplo la predisposición genética y la combinación banco/variedad, aunque se sabe que el factor más influyente para disparar un comportamiento alternante en la producción es la inhibición en la inducción floral, producida por la presencia excesiva de giberelinas (GAs) en el tejido meristemático.

Inducción Floral

La formación floral arranca con la inducción floral la cual ocurre en un meristemo originalmente meristemático que pasa a ser floral como resultado de estímulos externos e internos. Este proceso se presenta bajo condiciones normales en los meses de mayo y junio en la región de Arteaga Coahuila. La inducción floral en manzano como en muchos frutales de clima templado depende principalmente de condiciones internas del árbol; mientras en frutales de clima tropical como los cítricos la inducción floral ocurre por medio de estímulos externos como la temperatura y el fotoperiodo (Wilkie et al., 2008). Este proceso de inducción consiste en un cambio morfológico y fisiológico en

las células de una yema meristemática. En un principio esta yema tiene una forma cónica al observarse bajo el microscopio, al ser inducida la punta de la yema comienza a aplanarse y en las paredes laterales comienzan a formarse protuberancias que darán lugar a los primordios florales. Un meristemo vegetativo solo puede transformarse en un meristemo floral cuando su formación está casi completa (Jackson, 2003).

Periodo de Inducción Floral

Buban y Faust (1982) sugieren que el periodo de inducción floral inicia en primavera, unos 20 o 40 días después de floración. Sin embargo este periodo puede variar, un ejemplo claro son las yemas laterales en las ramas de dos años, estas son inducidas antes que las yemas terminales de los crecimientos largos. (Faust, 1989), también depende del cultivar, edad y manejo del árbol (Jackson, 2003). La inducción floral tardía ha sido observada en ambos tipos de año “on” y “off” , también en algunas áreas/cultivares con temporadas de crecimiento largo, (Buban and Faust, 1982). Foster et al. (2003) estudió el desarrollo temprano de los meristemas florales en “Royal Gala” y reporto que los meristemas vegetales aun podían cambiar su naturaleza entre los cero y 100 días después de floración.

Inhibición Floral

Inhibición floral puede definirse como la “no inducción” o falta de inducción floral en el tejido meristemático. Este fenómeno puede ser ocasionado por diversos

factores adversos, principalmente altas concentraciones de las giberelinas A₁, A₄ y A₇ en la época de inducción floral. La hipótesis más aceptada actualmente establece que el crecimiento acelerado de los meristemos apicales ocasionado por las giberelinas no le permite a dicho tejido sufrir una diferenciación a nivel meristemo, que en condiciones normales daría lugar a células reproductivas.

Desarrollo Floral

El desarrollo morfológico de los primordios florales comienza justo después de la inducción, para el otoño la mayoría de las partes anatómicas de la flor ya están formadas (Faust, 1989). Los primordios continúan incrementando su tamaño en el invierno, particularmente los primordios de las yemas apicales. A mediados del invierno el diámetro de el primordio de las yemas apicales es de unos 740 µm, mientras que los encontrados en yemas laterales es de 560 µm (Buban et al., 1979).

Ambos, crecimiento y desarrollo continúan en el invierno siendo influenciados drásticamente por la temperatura; aquí, radica la gran importancia de la acumulación de horas frío en manzano.

El desarrollo de las partes florales finaliza al inicio de la primavera, cuando las yemas alcanzan el estadio de desarrollo conocido como punta verde, esto ocurre la segunda semana de marzo en la zona frutícola de Coahuila, lo que significa que el proceso de formación de flores en manzano concluye casi un año después del momento de la inducción floral.

Inducción Floral y Bianualidad en Manzano

En el caso de manzano, el fenómeno de la bianualidad ha sido estudiado desde la década de los 40 por científicos como Hoblyn et al. (1936) y por algunos más como Monselise y Goldschmidt (1982). Jonkers (1979) cita 15 factores que afectan la tendencia de producción bianual en un árbol entre los cuales, cultivar, cantidad de fruta por árbol, porta injertos y heladas en primavera son los más influyentes.

La combinación de cultivar y porta injerto es tal vez el factor más importante, pues determina la susceptibilidad genética a la bianualidad. Un ejemplo marcado de bianualidad se da cuando se injerta el cultivar “Golden Delicious” en un banco vigoroso como es el MM111, esto no ocurre cuando se combina el mismo cultivar con los bancos enanizantes como el EM6 y EM9.

Las heladas en primavera también pueden inducir una bianualidad marcada pues la reducción drástica en la cantidad de fruta y semillas dará lugar a una baja concentración interna de giberelinas lo que le permitirá a las células del tejido meristemático diferenciar en células reproductivas, lo que a su vez dará lugar a una alta floración el año siguiente (Monselise y Goldschmidt, 1982).

Condiciones de baja intensidad lumínica (Jackson y Palmer, 1977) y condiciones de sequía (Engin, 2008) han demostrado reducir la inducción floral, sin embargo estos factores son considerados como efectos moduladores por algunos autores (Bangerth, 2006).

Para explicar el fenómeno de bianualidad es importante considerar también la competición por los recursos energéticos y nutricionales de las partes vegetativa y reproductiva de la planta. Sin embargo este factor no se considera como el más importante, la investigación sugiere que el factor más importante es la concentración de hormonas endógenas producidas por las semillas y los tejidos vegetales como giberelinas, auxinas, etileno y citocininas. Una manera de explicarlo es, un año con floración y amarre abundante (año “on”) dará lugar a una alta concentración de giberelinas que inhibirán el proceso de inducción floral, por tanto el año siguiente existirá una baja concentración de giberelinas debido a la ausencia de flores (año “off”), lo que permitirá una abundante transformación a meristemas florales originando nuevamente un año “on”. (Dennis y Neilsen, 1999; (Sachs, 1977 y Buban y Faust, 1982).

Alternativas para Reducir la Bianualidad

Entre los principales factores que regulan el proceso de inducción floral en manzano están: luz, nitrógeno, agua y hormonas. Las labores agrícolas que tienden a favorecer este proceso serían: **a)** El uso de patrones enanizantes; **b)** poda suave, evitando despuntes, a fin de evitar un exceso de crecimiento; **c)** inclinación de ramas (“ortofitia”); **d)** raleo de frutos temprano (se sabe que son las semillas, debido a la producción de giberelinas, las cuales inhiben fuertemente el proceso); **e)** fertilización nitrogenada balanceada, evitando excesos; **f)** disminución del riego en el periodo de la inducción floral; **g)** uso

de biorreguladores como los inhibidores de crecimiento, del tipo antigeberelico y antiauxínico (PP333, P-Ca; Cycocel; Cycilanilida) y citoquininas(6-BAP,6-FA); **h)** anillado de ramas previo a la época de inducción, lo que permitiría una mayor acumulación de carbohidratos y con ello un aumento en la relación carbono/nitrógeno (C/N), fundamental para el proceso de inducción floral; **i)** poda de raíces, que aumentaría la relación C/N, debido a una menor absorción de nitrógeno.

En relación al anillado y la poda de raíces, pueden ser medidas inadecuadas para ser aplicadas en manzanos, pues sus efectos secundarios negativos con frecuencia son mayores que los beneficios buscados (Yuri et al., 2002)

Al ser la predisposición genética de cada cultivar de manzano un factor crítico para la aparición del fenómeno de bianualidad es una buena idea seleccionar los cultivares que se adecuen más a las condiciones climatológicas de la zona.

Otro método de control muy eficiente es regular la cantidad de fruta presente en el árbol, esto por medio de compuestos raleadores o por aclareo de flores con tijera.

La poda de raíz y tallos ha sido estudiada, pero no parece producir diferencias significativas en el fenómeno de la bianualidad.

La fertilización nitrogenada puede inhibir la inducción floral pues un exceso de este elemento producirá un periodo de alargamiento acelerado de los crecimientos vegetativos, esto puede retrasar o inhibir la transformación de este meristemo en un meristemo floral (Jackson, 2003).

La remoción temprana de una parte de la fruta es una práctica común en la horticultura, un objetivo importante de la práctica es mejorar la calidad de fruta en la temporada en curso (Wright et al., 2006). La remoción manual es el método más seguro, puesto que hay poco riesgo de remover una cantidad excesiva de fruta como puede ocurrir con los raleadores químicos. La remoción manual suele efectuarse 25 a 50 días después de floración en la zona de Arteaga. Es importante realizar esta actividad en una época temprana, pues una remoción tardía de fruta no producirá un retorno floral abundante, esto debido a que el periodo de inducción floral termina unos 75 días después de floración.

Biorreguladores

El uso de biorreguladores en el manejo integral del manzano es una alternativa de gran interés (Yuri et al., 2002). La aplicación de dos o más de esos compuestos han mostrado mayor eficacia en diversas especies frutícolas (Costa et al., 2004). Los biorreguladores son compuestos de origen natural o sintético que tienen la capacidad de alterar el crecimiento y comportamiento de las plantas. Estos compuestos tienen efectos muy variables a nivel celular. En algunos casos inhiben la biosíntesis o función de otros compuestos producidos naturalmente. Otros biorreguladores producen cambios en la transcripción de genes acelerando o disminuyendo su actividad dando origen modificaciones en el fenotipo.

En la mayoría de los frutales los biorreguladores son generalmente aplicados al follaje, donde son absorbidos y después translocados a los órganos de

demanda. En el caso del manzano los biorreguladores juegan un papel importante y pueden utilizarse en una amplia gama de labores con el objetivo de incrementar la productividad de las huertas (ej. maduración acelerada, reducción del vigor vegetal, raleo, etc.).

Citocininas

Las citoquininas están involucradas en una serie de reacciones críticas para el crecimiento y desarrollo de la planta, incluyendo: división celular, retraso de la senescencia, regulación de la dominancia apical y transmisión de señales nutricionales y son producidas a partir de una base nitrogenada muy común, la adenina (Sakakibara., 2004). Su nombre proviene del término citocinesis que se refiere al proceso de división celular, el cual podría ser considerado como el segundo proceso madre de todos los procesos fisiológicos en los vegetales, ya que a este proceso le antecede en importancia la diferenciación celular, la cual se encarga de dar origen a la formación de cada uno de los órganos de cualquier vegetal. Mediante este proceso (el más primordial del reino vegetal) predominantemente citocinínico, las células vegetales son transformadas en otro tipo de células específicas para formar un órgano en particular, ya sean raíces, hojas, flores o frutos, ya que cada uno tiene diferentes tipos de células. Estos eventos, no se realizan de manera exclusiva por las citocininas, desde luego, sino que estas hormonas son las encargadas de causar el efecto diferenciación celular, de “dar la orden” y de dirigir el proceso, en el cual intervienen otras sustancias con las que las citocininas

realizan esta tarea conjuntamente. Sin las citocininas, probablemente no habría diferenciación de órganos vegetales. Las citoquininas como 6-BAP y 6-FA se han utilizado para reducir la dominancia apical y estimular brotes laterales en arboles de manzano (Faust., 1989). La aplicación de 6-BAP también estimula el desarrollo de brotes laterales en árboles frutales caducifolios en vivero (Hortko et al., 1997); además, ha mostrado potencial para inducir el desarrollo de yemas florales en árboles de manzano del cultivar Scifresh/M9 (Palmer et al., 2005).

Modo de acción

Cuando Holley y sus colaboradores revelaron por primera vez la estructura de una molécula de ARNt, se encontraron con que la molécula contenía un cierto número de bases atípicas. Más tarde se descubrió que en algunos tipos de ARNt la citocinina natural i6Ade (6-N-isopentiladenina), que es a su vez una base atípica, está incorporada en la molécula. La i6Ade se encuentra, por ejemplo, en las moléculas de ARNt para la cerina y la tirosina, en las cuales está ubicada inmediatamente junto al anti codón. Sin embargo, todavía no se sabe si su presencia o su ubicación en moléculas de ARNt está relacionada con su actividad promotora de la división celular. Se conoce que el último efecto de las citocininas implica cambios en la expresión génica, probablemente a nivel transcripcional.

Prohexadiona de calcio

La prohexadiona de calcio (3-5-dioxo-4-propionilciclohexanocarboxilato de calcio) pertenece a la familia química de las ciclohexadionas, capaz de regular el crecimiento de diversas especies vegetales usada en frutales para mejorar el desarrollo vegetativo y la fructificación. Aplicada al follaje se absorbe por los tejidos verdes durante las 4 horas siguientes a su aplicación y se transloca acropetala y basipetalamente (Rademacher, 2000). Entre los diversos efectos que ejerce sobre el crecimiento y desarrollo de algunas plantas destacan: evitar el encamado en cereales; retardar el crecimiento del arroz, cacahuete, cebada, césped, frutales de hueso y chícharo; mejorar el desarrollo vegetativo de frutales de las pomáceas; y actuar como enanizante para plantas florales y ornamentales. Normalmente se utiliza para facilitar el manejo adecuado en huertos de manzano y peral: ayuda a reducir el crecimiento vegetativo de los nuevos brotes, consiguiendo el equilibrio adecuado entre el desarrollo del follaje y la producción de frutos. Permite controlar el crecimiento vegetativo, reducir la necesidad de podas manuales durante el verano y el invierno y mejorar la penetración de luz solar en la parte interna de los árboles, a la vez que se consigue una mejor coloración de frutos de cultivares rojos debido a una mayor penetración de luz en el interior del árbol. La P-Ca aumenta la retención de frutos en cuando es aplicada al inicio del crecimiento vegetativo (Rademacher, 2004). Como efectos secundarios de su presencia en los vegetales, se ha comprobado que aumenta su resistencia a ataques de pulgones y de *Cacopsylla pyri*. En algunos países está autorizada provisionalmente contra

la enfermedad tizón de fuego en manzano y peral causado por el patógeno *Erwinia amylovora*. (Costa et al., 2001).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
SUBDIRECCION DE POSGRADO

EL USO DE PROHEXADIONA DE CALCIO, 6-BENCIL AMINO PURINA Y 6-FURFURIL ADENINA COMO ALTERNATIVA PARA EL CONTROL DE CRECIMIENTO EN *Malus domestica* B. CV. GOLDEN DELICIOUS

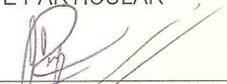
TESIS POR
JOSÉ CLEMENTE SÁNCHEZ CANSECO

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial, para optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

COMITÉ PARTICULAR

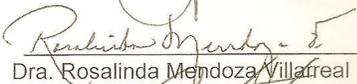
Asesor principal:


Dr. Homero Ramírez Rodríguez

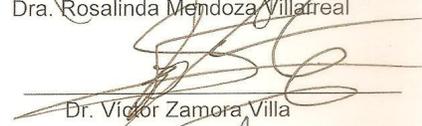
Asesor:


Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Asesor:


Dra. Rosalinda Mendoza Villareal

Asesor:


Dr. Víctor Zamora Villa


Dr. Fernando Ruiz Zárate
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Junio 2014

ii

Modo de acción

P-Ca tiene una estructura muy similar a la del ácido 2-oxoglutarico (originado en el ciclo de Krebs) que es el cosustrato de las desoxigenasas involucradas en las fases tardías de la biosíntesis de las giberelinas activas. Por lo que una alta concentración de P-Ca en el citoplasma da lugar a una reducción en la tasa de síntesis de las giberelinas activas (A_1 , A_4 y A_7) y consecuentemente reduce el crecimiento longitudinal de meristemas y en la inhibición de la inducción floral (Rademacher, 2004; Ramírez et al., 2005) dando como resultado una acumulación de las giberelinas biológicamente inactivas A_{12} , A_{19} y A_{29} (Rademacher., 2000).

Jiménez et al., (2002) han propuesto que la P-Ca es un biorregulador que podría modificar la fase acuosa de antioxidantes en una etapa previa a la maduración del fruto dando como resultado que las plantas tratadas sean capaces de redirigir la acumulación de metabolitos hacia deoxiflavonoides inusuales que muestran propiedades similares a las fitoalexinas contra varios patógenos de plantas (Fisher et al., 2006). El mecanismo de acción de P-Ca no se limita a una redirección de la vía de biosíntesis natural que conduzca a la formación de flavanonas y active una vía alternativa para la producción de las deoxicatequinas. Esta perturbación aumenta la transcripción de la enzima fenilamonioliasa (PAL), punto clave en la formación de los metabolitos secundarios como vitamina C y carotenoides (Puhl et al., 2008).

El consumir frutos de manzano con mayor contenido en vitamina C, además de su valor alimenticio, contribuye a fortalecer el sistema inmunológico contra enfermedades cardiovasculares, de cáncer y diabetes (Cruz-Pérez et al., 2007).

El conocimiento de la ruta bioquímica que permite mayor producción de carotenoides en la fruta es muy limitado a la fecha. Rademacher et al., (2000) proponen que los biorreguladores estudiados aquí, pudieran ejercer su acción al estimular cambios en el perfil de flavonoides ligados a la síntesis de los carotenoides totales y antioxidantes específicos como la vitamina C y licopeno.

Metabolismo

La desnaturalización de la P-Ca en la planta rápida, con una vida media de 4 a 20 días. Tan pronto ingresa al tejido vegetal, después de su asimilación y del partimiento de su anillo, ocurre naturalmente el ácido propano 1, 2, 3-tricarboxílico (ácido tricarbárico), el cual es introducido al metabolismo de la planta (Evans et al., 1999). En el suelo es móvil pero no se lixivia ni se bioacumula por su rápida degradación. No tiene influencia en el cultivo siguiente en la rotación. En el agua se desdobla por fotólisis en productos naturales y CO₂ (Rademacher, 2000),

Antioxidantes

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas Matill (1947). La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que

comienzan reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. Debido a esto es que los antioxidantes son a menudo agentes reductores tales como tioles o polifenoles. Los antioxidantes se encuentran a gran escala en el olivo, ajo, arroz integral, café, coliflor, brócoli, jengibre, perejil, cebolla, cítricos, tomates, aceite de semilla de la vid, té, romero, entre otras muchas sustancias. También son parte importante constituyente de la leche materna.

Aunque las reacciones de oxidación son cruciales para la vida, también pueden ser perjudiciales; por lo tanto las plantas y los animales mantienen complejos sistemas de múltiples tipos de antioxidantes, tales como glutatión, vitamina C y vitamina E (Jacob, 1996). Algunos pigmentos derivados del terpeno como los flavonoides y los carotenoides también ayudan a la reducción del estrés oxidativo, así como enzimas tales como la catalasa, superóxido dismutasa y varias peroxidases. Los niveles bajos de antioxidantes o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células.

Vitamina C

La vitamina C, enantiómero L del ácido ascórbico, es un nutriente esencial, en particular para los mamíferos (Padayatty 2003). La presencia de esta vitamina es requerida para un cierto número de reacciones metabólicas en todos los animales y plantas y es creada internamente por casi todos los organismos, siendo los humanos una notable excepción. Su deficiencia causa escorbuto en

humanos, de ahí el nombre de ascórbico que se le da al ácido, y es ampliamente usada como aditivo alimentario para prevenir este último (UMMC 2002).

El farmacóforo de la vitamina C es el ion ascorbato. En organismos vivos, el ascorbato es uno de los antioxidantes más abundantes, pues protege a los organismos contra la oxidación, y es un cofactor en varias reacciones enzimáticas vitales. Los usos y requisitos diarios de esta vitamina son origen de debate. Se ha afirmado que las personas que consumen dietas ricas en ácido ascórbico de fuentes naturales, como frutas y vegetales son más saludables y tienen menor mortalidad y menor número de enfermedades crónicas. Sin embargo, un metanálisis de 68 experimentos confiables en los que se utilizó la suplementación con vitamina C, y que involucra 232.606 individuos, concluyeron que el consumo adicional de ascorbato a través de suplementos puede no resultar beneficioso como se pensaba (Wilson 1975).

Una gran mayoría de animales y plantas son capaces de sintetizar vitamina C, a través de una secuencia de pasos enzimáticos (D-glucuronato, L-gulonato, L-gulonolactona, 2-ceto-L-gulonolactona y L-ascorbato), los cuales convierten la glucosa en vitamina C. La glucosa necesaria para producir ascorbato en el hígado (en mamíferos) es extraída del glucógeno, por esto la síntesis de ascorbato es un proceso glicólisis-dependiente. En reptiles y pájaros la biosíntesis es llevada a cabo en los riñones. Los seres humanos no poseen la capacidad enzimática de producir vitamina C. La causa de este fenómeno es que la enzima del proceso de síntesis, la L-gulonolactona oxidasa está ausente debido a que el gen para esta enzima (Pseudogene Ψ GULO) es defectuoso. La mutación no es letal para el organismo, debido a que la vitamina C es abundante en las fuentes alimentarias. Se ha detectado que las especies con esta mutación (incluyendo humanos) han adaptado un mecanismo de reciclaje para compensarla (Pollok 1986). Se ha observado que la pérdida de la habilidad para sintetizar ascorbato es sorprendentemente paralela a la pérdida evolucionaría de la habilidad para disminuir ácido úrico. Ácido úrico y ascorbato son fuertes agentes reductores. Esto ha conducido a la sugerencia que en

primates superiores, el ácido úrico haya asumido algunas funciones del ascorbato. El ácido ascórbico puede ser oxidado en el cuerpo humano por la enzima acidoascorbico-oxidasa.

Carotenoides

Los carotenoides son pigmentos orgánicos pertenecientes al grupo de los isoprenoides, también conocidos como terpenoides y que se encuentran de forma natural en plantas y otros organismos fotosintéticos como algas, algunas clases de hongos y bacterias también se pueden encontrar en organismos del reino animal, en su caso lo obtienen por medio de la depredación. Se conoce la existencia de más de 700 compuestos pertenecientes a este grupo.

Los carotenoides son el grupo más representativo de los tetraterpenos, compuestos que se caracterizan por una estructura con 40 átomos de carbono, aunque no todos los carotenoides se ajustan estrictamente a esta regla. Estos átomos de carbono se encuentran ordenados formando cadenas poliénicas conjugadas en ocasiones terminadas en anillos de carbono. A los carotenoides que contienen átomos de oxígeno se les conoce más específicamente como xantofilas. Los restantes constituyen el grupo de los llamados carotenos. Su color, que varía desde amarillo pálido, pasando por anaranjado, hasta rojo oscuro, se encuentra directamente relacionado con su estructura: los enlaces dobles carbono-carbono interactúan entre sí en un proceso llamado conjugación. Mientras el número de enlaces dobles conjugados aumenta, la longitud de onda de la luz absorbida también lo hace, dando al compuesto una apariencia más rojiza. Por ejemplo, el fitoeno que posee únicamente tres enlaces dobles conjugados absorbe luz en el rango ultravioleta y apareciendo por tanto incoloro a la vista, el licopeno, compuesto que confiere su color rojo al tomate contiene 11 enlaces dobles conjugados. Existen también carotenoides de color verde (ζ -Caroteno), amarillo (β -caroteno), y anaranjado (neurosporaxantina).

En organismos fotosintéticos los carotenoides desempeñan un papel vital en los centros de reacción, ya sea participando en el proceso de transferencia de energía, o protegiendo el centro de reacción contra la autooxidación. En los organismos no fotosintéticos, los carotenoides han sido vinculados a los mecanismos de prevención de la oxidación.

Los animales son incapaces de sintetizar carotenoides y deben obtenerlos a través de su dieta, siendo estos compuestos importantes por su función biológica como pro-vitamina A. Como ejemplo de estos compuestos en la naturaleza, podemos citar al carotenoide mejor conocido, el que da al grupo su nombre, el caroteno, encontrado en zanahorias y responsable de su color anaranjado brillante. El color rosado del flamenco y el del salmón, y la coloración roja de las langostas, también son producidos por carotenoides.

Entre las aplicaciones más importantes de los carotenoides se mencionan: Su uso como pigmentos naturales, así como su papel como complemento alimenticio. (IARC 1998).

ARTICULO

Control del crecimiento en manzano con prohexadiona de calcio, 6-bencil amino purina y 6-furfuril adenina

**Growth control in apple with Prohexadione calcium, 6-benzyl amino
purine and 6-furfuryladenine**

(Con 5 Figuras)

**Ramírez H¹, JC Sánchez-Canseco¹, A Benavides-Mendoza¹, R Mendoza-
Villarreal¹, VM Zamora-Villa², JH Rancaño-Arrijoja³**

¹Departamento de Horticultura, ²Departamento de Fitomejoramiento, ³Dirección
de investigación.

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.

Título corto: Control de crecimiento en árboles de manzano

Autor de correspondencia: Homero Ramírez, Teléfono 052-844-4110306; *e-mail*
hrr_homero@hotmail.com.

Sistema operativo y procesador de palabras: Windows 7 – Word 2010

Resumen. Es una realidad que el cambio climático ocasiona altibajos en la producción frutícola. Esto, como resultado de alteraciones en factores ambientales; entre los cuales la temperatura adversa extrema en la región frutícola del norte de México ocasiona trastornos en la fisiología de los árboles de manzano (*Malus x domestica* Borkh.). El excesivo crecimiento vegetativo y la

reducción en la formación de yemas florales destacan entre ellos. En este trabajo se evaluó el efecto de prohexadiona de calcio (P-Ca), 6-bencil aminopurina (BAP, por sus siglas en inglés) y N6-furfuriladenina (cinetina) sobre el crecimiento vegetativo y reproductivo en árboles de manzano cv. Golden Delicious así como su influencia en el contenido de fitoquímicos antioxidantes como carotenoides y vitamina C. El experimento se realizó en Arteaga, Coah., México. Se utilizó un diseño completamente al azar en arreglo factorial (4 x 3) con 12 repeticiones. Se analizó el efecto de P-Ca (0, 150, 300 y 450 mg/L), definido como factor A; y BAP + cinetina (0, 150 y 300 mg/L) y combinaciones entre ellas como factor B. Las variables evaluadas fueron crecimiento vegetativo, determinación de peso, contenido de carotenoides y vitamina C en frutos maduros; y retorno floral. P-Ca redujo notablemente el exceso de crecimiento vegetativo y estimuló el retorno floral del ciclo siguiente; además, incrementó el contenido de carotenoides y vitamina C en frutos. Las citocininas aplicadas individualmente o combinadas con la P-Ca produjeron frutos de mayor peso y aumentaron el contenido de carotenoides y vitamina C en ellos, además, incrementaron la formación de yemas florales.

Palabras clave: *Malus x domestica* Borkh., Manzano; Bioreguladores; Citocininas; Retardante de crecimiento.

Abstract. It is well established that weather change is altering yield in fruit trees. This adversity reflects among others, extreme temperature modifications in northern Mexico. This effect modifies negatively the physiology of apple trees (*Malus x domestica* Borkh.), originating excessive shoot growth

and a decrease in flower bud formation. In this study, Prohexadione-Ca (P-Ca), 6-benzyl amino purine (BAP) and N6-furfuryladenine (kinetin) were evaluated on shoot and reproductive growth in Golden Delicious apple trees in Arteaga Coah., Mexico. A complete randomized design in a 4 X 3 factorial arrangement with 12 replicates was used. The effect of P-Ca at 0, 150, 300 and 450 mg/L, and 6-BAP + kinetin at 0, 150 and 300 mg/L and combinations of them with P-Ca were analyzed. A control (water) was also incorporated. Variables evaluated were: shoot growth, fresh weight, vitamin C, and carotenoid content in fruit and return bloom. P-Ca drastically reduced shoot growth and increased return bloom. Carotenoids and vitamin C in fruits was increased with this retardant. Cytokinins applied individually or in combination with P-Ca caused increments on: flower bud formation, fruit weight; carotenoid and vitamin C in harvested fruits.

Keywords: (*Malus x domestica* Borkh.) Apple; Bioregulators; Cytokinins; Growth retardant

INTRODUCCIÓN

La estadística de 2011 indica que la superficie de manzano (*Malus x domestica* Borkh.) en México fue de 56,845 ha con una producción de 630,533 toneladas. Los principales estados productores son Chihuahua (73%), Durango (11%) y Coahuila (5%). El valor total de la producción en ese año fue de 3,122 millones de pesos (SIAP, 2011).

Es de conocimiento general que el cambio climático es una de las principales causas de los altibajos en la producción de alimentos hortícolas. Esta condición se refleja en trastornos fisiológicos en árboles frutales como brotación deficiente, disminución de yemas florales, frutos pequeños, caída de fruto y crecimientos vegetativos excesivos.

El cultivo de manzano requiere de un equilibrio entre las fases vegetativa y reproductiva; sin embargo, un manejo técnico inadecuado o la influencia en años recientes de alteraciones naturales en temperaturas y radiación solar han contribuido adversamente en las bajas producciones y calidad de la fruta cosechada en diferentes partes del mundo. En base a estas experiencias, en la actualidad es notoria la búsqueda de opciones que permitan mejorar la producción y calidad de manzana y de esta manera aprovechar el potencial genético de este frutal y contribuir a cosechar frutas de mejor calidad para el consumidor (Forshey et al., 1992).

El uso de biorreguladores en el manejo integral del manzano es una alternativa de gran interés (Yuri et al., 2002). La aplicación de dos o más de

esos compuestos han mostrado mayor eficacia en diversas especies frutícolas (Costa et al., 2004).

La P-Ca es un retardante del crecimiento que inhibe temporalmente la síntesis de las giberelinas biológicamente activas A₁, A₄ y A₇, ocasionando con ello una reducción en el crecimiento vegetativo longitudinal de ramas en árboles frutales como peral y manzano. Lo anterior ocurre considerando que la P-Ca tiene una estructura muy similar a la del ácido 2-oxoglutárico que es el co-substrato de las desoxigenasas involucradas en las fases tardías de la biosíntesis de las giberelinas activas. Por lo que una alta concentración de P-Ca en el citoplasma da lugar a una reducción en la tasa de síntesis de las giberelinas señaladas y por ende una acumulación de las giberelinas biológicamente inactivas A₁₂, A₁₉ y A₂₉ (Rademacher., 2000).

Las citocininas están involucradas en varios procesos ligados al crecimiento y desarrollo de la planta entre los que destacan: división celular, retraso de la senescencia, regulación de la dominancia apical y transmisión de señales nutricionales (Sakakibara., 2004). Las citocininas como BAP y cinetina se han utilizado para reducir la dominancia apical y estimular brotes laterales en árboles de manzano (Faust., 1989). La aplicación de BAP también estimula el desarrollo de brotes laterales en árboles frutales caducifolios en vivero (Hortko et al., 1997); además, ha mostrado potencial para inducir el desarrollo de yemas florales en árboles de manzano del cultivar Scifresh/M9 (Palmer et al., 2005).

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó durante el periodo primavera 2013-2014 en una huerta localizada al sur del municipio de Arteaga en el estado de Coah., México, 25°21'45.48" N y 100°38'36.23" O, con una altitud de 2170 msnm.

El material vegetal consistió en árboles de manzano de 14 años de edad cv. Golden Delicious/MM111. Los tratamientos con P-Ca fueron a dosis de 0, 150, 300 y 450 mg/L y con citocininas a concentraciones de 0, 150 y 300 mg/L; así como combinaciones de estos biorreguladores y dosis mencionadas. Los tratamientos se aplicaron mediante aspersión iniciando con P-Ca el día 21 de abril; mientras que 7 d después se aplicó el tratamiento con citocininas. Una segunda aplicación con P-Ca se realizó 15 d después de la primera aplicación, utilizando las mismas dosis. Se utilizó un diseño completamente al azar con 12 repeticiones, en un arreglo factorial 4X3 donde los factores fueron P-Ca y citocininas. Las variables evaluadas fueron: crecimiento vegetal; peso, carotenoides y vitamina C en frutos cosechados y retorno floral. La unidad experimental comprendió dos árboles. Se utilizó el sistema de análisis estadístico (SAS 7.0) para someter los datos a análisis estadístico y comparación de medias DMS ($\alpha=0.05$).

Crecimiento vegetativo. El crecimiento apical en curso de ramas seleccionadas se midió semanalmente con una regla graduada escala 0-50 cm y un vernier modelo CALDI-6MP escala 0-15 cm durante el desarrollo vegetativo.

Peso de fruto. La determinación del peso en frutos se efectuó al momento de la cosecha en el mes de septiembre utilizando una balanza digital Sartorius Electronic Toploader modelo1006 MP9.

Retorno floral. Éste parámetro se evaluó el 21 de abril de 2014 al realizar el conteo de inflorescencias formadas en tres ramas del primer piso por árbol previamente seleccionadas.

Determinación de vitamina C. El contenido de vitamina C en frutos se determinó con la técnica modificada y previamente reportada por Gutiérrez et al. (2007). La muestra de fruta se cosechó y congeló a una temperatura de -82°C en un congelador de laboratorio de baja temperatura marca KW modelo Premium Line Series 806l por un periodo de 24 h. Luego, se tomaron 5 g de muestra y se liofilizaron con un equipo Labconco modelo Freezone 4.5 a una temperatura de -84°C y una tensión de 3 atm. El tejido liofilizado se maceró en un mortero congelado y 50 mg fueron depositados en un tubo Eppendorf de 1.5 mL conteniendo 1 mL de agua: acetona (1:1). Los tubos se sometieron a agitación en un vortex por 30 s y posteriormente se sonicaron por 10 min con un sonicador marca Branson modelo 1510. Los tubos nuevamente se sometieron a vortex por 60 s y se centrifugaron a una temperatura de -4°C a 12000 rpm por 10 min para sedimentar la fase sólida. Se extrajo el sobrenadante con una jeringa de 5 mL adjunta a un filtro de cuatro micras y se depositó en un tubo Eppendorf que posteriormente se desgasificó por 5 min en el sonicador para remover las burbujas de aire. Se tomaron 60 μL de la muestra y se inyectaron en la celdilla de un cromatógrafo líquido marca Thermo Scientific modelo

Spectra System P4000. La fase móvil utilizada fue agua desionizada y fosfato de ácido de sodio a una concentración de 50 µM y pH 4.5. Se construyó una curva de calibración con ácido ascórbico con las dosis de 2, 4, 6, 8 y 10 mg/L para transformar las mediciones obtenidas en miliunidades de absorbancia a mg/L de vitamina C.

Determinación de carotenoides. El contenido de carotenoides en frutos se determinó con la técnica descrita por Tomas (1975). Se pesaron 10 g de fruta fresca los cuales fueron macerados en un mortero frío; se agregó 50 mL de acetona y refrigeró a 4°C por 24 h. La muestra se filtró en un matraz de separación con ayuda de una gasa. Se agregaron 20 mL de éter de petróleo y 100 mL de agua destilada. Se agitó por 10 min y después de 15 min de reposo se tomó la fase superior con éter de petróleo+ carotenoides con una jeringa y se depositó en un matraz. Se agregó 10 mL de NaOH al 40% y 20 mL de sulfato de sodio al 10% en agua destilada. La mezcla final se filtró con papel Whatman No.1. Se tomó 5 mL de la solución y transfirió a una celdilla de cristal para leer su absorbancia en un espectrofotómetro marca Thermo Electron Co. modelo Biomate 5 a una longitud de onda de 454 nm. El contenido de carotenoides se determinó con la fórmula:

$$\mu g \text{ carotenoides} / 100 \text{ g de fruto} = \% \text{ Abs} \times 3.857 \times V \times 100 / P$$

Dónde:

% Abs = por ciento de absorbancia.

P = peso de la muestra en gramos.

RESULTADOS

Se pudo observar una drástica reducción del crecimiento vegetativo en ramas de los árboles tratados con P-Ca a cualquier dosis (Fig. 1). La reducción en el desarrollo de las ramas estuvo presente durante todo el período de evaluación, resultando con una marcada inhibición al final de su etapa en donde la mayor reducción medida fue de 39% al compararse con el testigo, la cual ocurrió en el tratamiento con P-Ca a 450 mg/L.

La aplicación individual de P-Ca en cualquier dosis, no influyó en el peso de los frutos al momento de la cosecha; sin embargo al combinarse con las citocininas se incrementó el peso de los frutos (Fig. 2). En esta sinergia destacan significativamente las combinaciones de P-Ca 150 mg/L + citocininas 150 mg/L y P-Ca 450 mg/L + citocininas 300 mg/L. La aspersion de citocininas en forma individual también ocasionó incrementos substanciales en el peso de los frutos; en donde fue muy notable con los tratamientos con 150 y 300 mg/L. En ellos, el incremento en peso alcanzó hasta 50 g al compararse con los frutos testigo.

Se detectó una tendencia de incremento en vitamina C en la mayoría de los tratamientos hormonales cuando se compararon con los frutos testigo (Fig. 3). Esa diferencia fue estadísticamente significativa en las dosis: P-Ca 450 mg/L, P-Ca 450 mg/L+ citocininas 150 mg/L y P-Ca 450 mg/L+ citocininas 300 mg/L. En ellos se observaron incrementos de 28 mg de vitamina C en promedio por cada 100 gramos de materia seca al compararse con los frutos de los árboles testigo.

El contenido de carotenoides en frutos fue positivamente modificado con la presencia de biorreguladores (Fig. 4). En este parámetro, fueron estadísticamente muy notables los incrementos cuando se aplicó cualquier dosis de P-Ca o cuando este retardante de crecimiento se combinó con las citocininas. Lo más destacable se observó en los tratamientos P-Ca 300 mg/L con un 120% de incremento en contenido de carotenos y P-Ca 450 mg/L individual o en combinación con citocininas 300 mg/L en donde se duplicó el contenido de los antioxidantes referidos.

La aplicación de P-Ca y citocininas influyeron en la formación de yemas florales. Se observó un aumento significativo en el número de inflorescencias cuando se asperjó individualmente o en combinación 150 mg/L de P-Ca y citocininas. El tratamiento P-Ca 150 mg/L + citocininas 300 mg/L también resultó en un aumento significativo; el cuál duplicó el número de inflorescencias observado en los árboles testigo (Fig. 5).

DISCUSIÓN

La reducción observada sobre el crecimiento vegetativo cuando se aplicó P-Ca (Fig. 1) coincide con los reportes de Ramírez et al., (2003) y Costa et al., (2004). Ellos demostraron en árboles adultos de manzano que la aplicación de P-Ca en el rango 150-300 mg/L reduce drásticamente el crecimiento de ramas. La inhibición en el desarrollo vegetativo fue evidente y efectiva al aplicarse la P-Ca al inicio de la fase de crecimiento de las ramas. Esta evidencia la sustenta Cline (2006) con su trabajo en manzano al encontrar que al aplicar P-Ca cuando los crecimientos vegetales alcanzaron los 5 cm el crecimiento longitudinal al final de la temporada se redujo un 30%. La P-Ca es un retardante del crecimiento que ejerce su acción a través de la inhibición temporal de la síntesis de las giberelinas biológicamente activas A_1 , A_4 y A_7 en el ápice (Brown et al., 1997; Rademacher et al., 2000). Lo anterior, origina una modificación en la dirección de translocación de asimilados del ápice hacia otros puntos de la rama ocasionando brotes de yemas laterales y engrosamiento de la propia rama (Ramírez et al., 2003). En el manejo de manzano, la práctica de poda es clave para obtener una buena producción y calidad (Costa et al., 2004), por lo tanto, la reducción en el crecimiento vegetativo observada en la presente investigación podría contribuir a considerar al P-Ca como una herramienta en el control de crecimiento del manzano.

En la variable de peso del fruto, fue muy evidente el incremento en los tratamientos en donde se combinaron la P-Ca y citocininas (Fig. 2). Esta experiencia fue también observada por Costa *et al.*, en manzano (2004). El

aumento en peso del fruto puede reflejar una sinergia fisiológica entre el retardante y las citocininas. La P-Ca podría estar induciendo un ingreso mayor de asimilados al fruto (Ramírez et al., 2003); mientras que las citocininas provocarían mayor división y elongación celular dentro de ese órgano (Buban, 2000). Esta condición resultaría en frutos de mayor peso (Faust, 1989).

Es evidente el estímulo que ejercieron la P-Ca y citocininas en la producción de vitamina C en frutos maduros (Fig. 3). El aumento en vitamina C observado en el presente estudio es soportado con los reportes previos en chile mirador (Ramírez et al., 2010) y manzano (Ramírez et al., 2010). El mecanismo de acción a través del cual la P-Ca y citocininas podrían ejercer su estímulo es aún desconocido; sin embargo Jiménez et al. (2002) han propuesto que estos biorreguladores podrían modificar la fase acuosa de antioxidantes en una etapa previa a la maduración del fruto. El incremento en la vitamina C en los frutos, definitivamente es una alternativa real como antioxidante para una buena salud en el humano. El consumir frutos de manzano con mayor contenido en vitamina C, además de su valor alimenticio, contribuye a fortalecer el sistema inmunológico contra enfermedades cardiovasculares, de cáncer y diabetes (Cruz-Pérez et al., 2007).

El aumento observado en el contenido de carotenoides en los frutos tratados con P-Ca y citocininas (Fig. 4), coinciden con los resultados reportados en manzano por Costa et al., (2004) y Ramírez et al., (2010). El conocimiento de la ruta bioquímica que permite mayor producción de carotenoides en la fruta es muy limitado a la fecha. Rademacher et al. (2000) proponen que los

bioreguladores estudiados aquí, pudieran ejercer su acción al estimular cambios en el perfil de flavonoides ligados a la síntesis de los carotenoides totales y antioxidantes específicos como la vitamina C y licopeno. Con base en lo anterior, se requiere más investigación en este tema.

El aumento en el número de inflorescencias observado en la primavera de 2014 en los árboles que recibieron en forma individual o la combinación de P-Ca y citocininas en 2013 reflejan el estímulo que tuvieron esos bioreguladores en el proceso de inducción floral (Fig. 5). Este efecto lo observaron Bukovac et al. (2006) y Petri et al. (2010) en diferentes cultivares de manzano. La etapa de aplicación de P-Ca y citocininas durante la primavera del año 2013 fue clave pues se ha demostrado que un aumento en citocininas endógenas en la yema estimulada a ser floral ocurre en forma natural (Ramírez et al., 2010) y ese estímulo se prolonga o aumenta cuando se aplica en esa fase fisiológica P-Ca (Garner et al., 2010) y citocininas endógenas como zeatina y 6-bencil amino purina (Kittikorn et al., 2010).

El incremento en yemas florales (Fig. 5) y la reducción en el crecimiento vegetativo (Fig. 1) logrados en el presente estudio proporcionan una buena alternativa para los productores de manzana en regiones como Arteaga Coahuila, México en donde el cambio climático ocasiona en los árboles una excesivo crecimiento vegetativo y una muy baja formación de yemas florales.

Prohexadiona de calcio aplicado en árboles de manzano cv Golden Delicious a dosis de 150, 300 y 450 mg/L reduce significativamente el

crecimiento vegetativo; aumenta el contenido de carotenoides y vitamina C en frutas y estimula el retorno floral. Las citocininas 6-bencil amino purina + 6-furfuril adenina a concentraciones de 150 y 300 mg/L aplicadas en forma individual o en combinación con P-Ca aumentan el peso, carotenoides y vitamina C en frutas y estimulan la formación de yemas florales en árboles de manzano cv. Golden Delicious.

AGRADECIMIENTOS

La presente investigación conto con el financiamiento del proyecto UAAAN 1330-3612-2178. José Clemente Sánchez Canseco agradece al CONACYT por la beca otorgada para sus estudios de maestría en Ciencias en Horticultura.

REFERENCIAS

- Beckheta, M.A., M.T., Abdelhamid y A.A. EL-Morsi (2009). Physiological response of *Vicia faba* to prohexadione-calcium under saline conditions. *Planta Daninha* 27: 769-779.
- Brown, R.G., H. Kawaide, Y.Y. Yang, W. Rademacher y Y. Kamiya (1997). Daminozide and prohexadione have similar modes of action as inhibitors of the late stages of gibberellin metabolism. *Plant Physiology* 101: 309–313.
- Buban, T. (2000). The use of benzyladenine in orchard fruit growing: a mini review. *Plant Growth Regulators* 32: 381-390.
- Bukovac, M.J., P. Sabbatini y P.G. Schualier (2006). Modifying alternate bearing of spur-type “Delicious” apple with ethephon. *HortScience* 41: 1606- 1611.
- Cline, J.A. (2006). Apogee- A new plant bioregulator for apples. Queens printer of Ontario. Toronto, Ontario. Factsheet 06-045.
- Costa, G., E. Sabatini, F. Spinelli, M. Andreotti, C. Bomben y G. Vizzoto (2004). Two years of application of prohexadione-Ca on apple. Effect on vegetative and cropping performance, fruit quality, return bloom and residual effect. *Acta Horticulturae* 653: 35-40.
- Cruz-Pérez, A.B., V.V. González-Hernández, R.M. Soto-Hernández, M.A. Gutiérrez-Espinoza, A.A. Gardea-Bejar y M. Pérez-Grajales (2007).

Capsaicinoides, vitamina C y heterosis durante el desarrollo del fruto de chile manzano. *Agrociencia* 41: 627-635.

Faust, M. (1989) Physiology of temperate zone fruit trees. John Wiley and Sons, New York, N.Y., pp 53-132.

Forshey, C.G., D.C. Elfving y R.L. Stebbins (1992). Training and pruning of apple and pear trees. American Society for Horticultural Science. 600 Cameron St., Alexandria VA., pp 2314-2562.

Garner, L.C., Y. Zheng, T. Khuong y C.J. Lovatt (2010). Prohexadione-calcium affects shoot growth of evergreen subtropical woody perennials differently than deciduous temperate zone woody perennials – is it case of apples and oranges. *Acta Horticulturae* 884: 249-256.

Gutiérrez, T., O. Hoyos y M. Páez (2007). Determinación del contenido de ácido ascórbico en uchuva (*Physalis peruviana* L.) por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). *Biotecnología en el Sector Agropecuario e Industrial* 5(1): 70-79.

Hedden, P y Y. Kamiya (1997). Gibberellin biosynthesis: Enzymes, genes and their regulation. 1997. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48: 431–460.

Jimenez, A., G. Creissen, B. Kular, J. Firmin, S. Robinson, M. Verhoeyen y P. Mullineaux (2002). Changes in oxidative processes and components of

the antioxidant system during tomato fruit ripening. *Planta* 214: 751-758.

Kittikorn, M., K. Okawa, H. Ohara, M. Yokoyama, O. Ifuku, S. Yoshida y S.

Kondo (2010). 9, 10-Ketol octadecanoic acid (KODA) levels and flower bud formation in apples. *Acta Horticulturae* 884: 133-137.

Hrotko, K., L. Magyar, C. Yao y Z. Ronay (1997). Effect of repeated BA (benzyladenine) application on feathering of 'Idared' apple nursery trees. *Acta Horticulturae* 463: 169-175.

Monselise, S.P y E.E. Goldschmidt (1982). Alternate bearing in fruit trees. *In: J. Janik, ed. Horticultural Rev.* 4: 128-173.

Nakayama, I., Y. Kamiya, M. Kobayashi, H. Abe y A. Sakurai (1990). Effects of a plant growth regulator, prohexadione, on the biosynthesis of gibberellins in cell-free systems derived from immature seeds. *Plant & Cell Physiology* 31: 1183–1190.

Sakakibara, H. (2004). Cytokinin biosynthesis and metabolism. *In: Davies P.J (Ed.). Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction and action,* pp 95-114.

Palmer, J.W., R. Diack, S. Seymour, D. Dayatilak y D.S. Tustin (2005). New approaches to the alleviation of barewood in young apple trees. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 80: 623-627.

- Petri, J.L., G.B. Leite, M. Couto y F.J. Haverroth (2010). Effect of growth regulators on 'Gala' apple fructification. *Acta Horticulturae* 884: 331-336.
- Rademacher, W. (2000). Growth retardants: Effects on gibberellins biosynthesis and other metabolic pathways. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 501-531.
- Ramírez, H., J.C. Gómez, A. Benavides, V. Robledo, L.I Encina y C.A. Coello (2003). Influencia de Prohexadiona-Ca sobre crecimiento vegetativo, producción y calidad de fruto en manzano. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 9(2): 279-289.
- Ramírez, H., B. Herrera, A. Benavides, J. Rancaño, V. Álvarez, C. Amado y A. Martínez (2010). Prohexadiona de calcio incrementa la capacidad antioxidante, el contenido de licopeno y la actividad enzimática en frutos de tomate Floradade. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 16(3).
- Ramírez, H., P.C. Leza-Hernández, A. Benavides, C. Amado-Ramírez, A. Martínez-Osorio y C.E. Rivera-Cruz (2010). Prohexadione-Ca modifies content of gibberellins and vitamin C, antioxidant capacity and enzymatic activity in apple. *Acta Horticulturae* 884:139-144.
- Tomas, P. (1975). Effect of post-harvest temperature on quality carotenoids and ascorbic content of Alphonso mangoes on ripening. *Journal of Food Science* 40(4): 704-706.

www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350.

(2011). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP).

Yuri, J.A., G. Lobos y V. Lepe (2002). Boletín técnico Pomáceas. 2 (5): 1-2.

Leyendas de las figuras

Fig. 1. Efecto de P-Ca sobre el crecimiento de ramas de manzano cv. Golden Delicious. Cada punto representa la media de 12 repeticiones. Medias con la misma letra son iguales (DMS, $\alpha=0.05$).

Fig. 1. Effect of P-Ca on shoot growth of Golden Delicious apple trees. Each point represents the mean of 12 replicates. Means with the same letter are similar (LSD, $\alpha = 0.05$).

Fig. 2. Efecto de P-Ca y citocininas sobre el peso del fruto de manzano cv. Golden Delicious. Cada pirámide representa la media de 20 repeticiones. Medias con la misma letra son iguales (DMS, $\alpha=0.05$).

Fig. 2. Effect of P-Ca and cytokinins on fruit weight of Golden Delicious apple. Each pyramid represents the mean of 20 replicates. Means with the same letter are similar (LSD, $\alpha = 0.05$).

Fig. 3. Efecto de P-Ca y citocininas en el contenido de vitamina C en frutos de manzano cv. Golden Delicious. Cada columna representa la media de 3 repeticiones. Medias con la misma letra son iguales (DMS, $\alpha=0.05$).

Fig. 3. Effect of P-Ca and cytokinins on vitamin C content in Golden Delicious apple fruits. Each column represents the mean of 3 replicates. Means with the same letter are similar (LSD, $\alpha = 0.05$).

Fig. 4. Efecto de P-Ca y citocininas en el contenido de carotenoides en fruto de manzano cv. Golden Delicious. Cada columna representa la media de 3 repeticiones. Medias con la misma letra son iguales (DMS, $\alpha=0.05$).

Fig. 4. Effect of P-Ca and cytokinins on carotenoids content in Golden Delicious apple fruit. Each column represents the mean of 3 replicates. Means with the same letter are similar (LSD, $\alpha = 0.05$).

Fig. 5. Efecto de P-Ca y citocininas sobre la formación de inflorescencias en manzano cv. Golden Delicious. Cada columna representa la media de 6 repeticiones. Medias con la misma letra son iguales (DMS, $\alpha=0.05$).

Fig. 5. Effect of P-Ca and cytokinins on return bloom in Golden Delicious apple trees. Each column represents the mean of 6 replicates. Means with the same letter are similar (LSD, $\alpha = 0.05$).

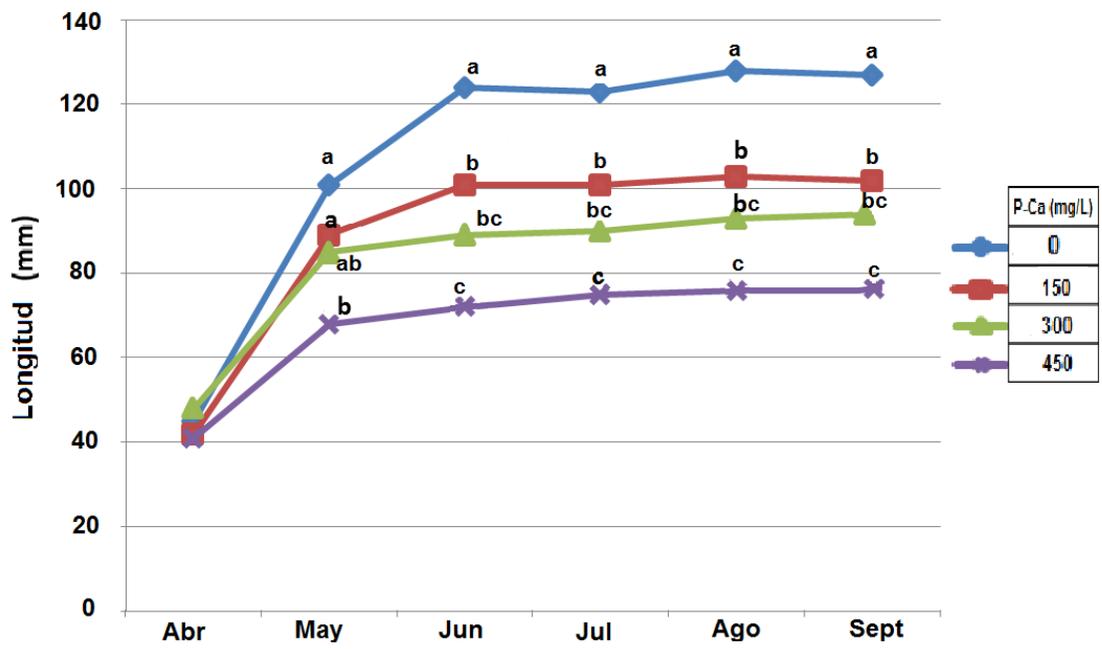


Fig. 1. Ramírez et al.

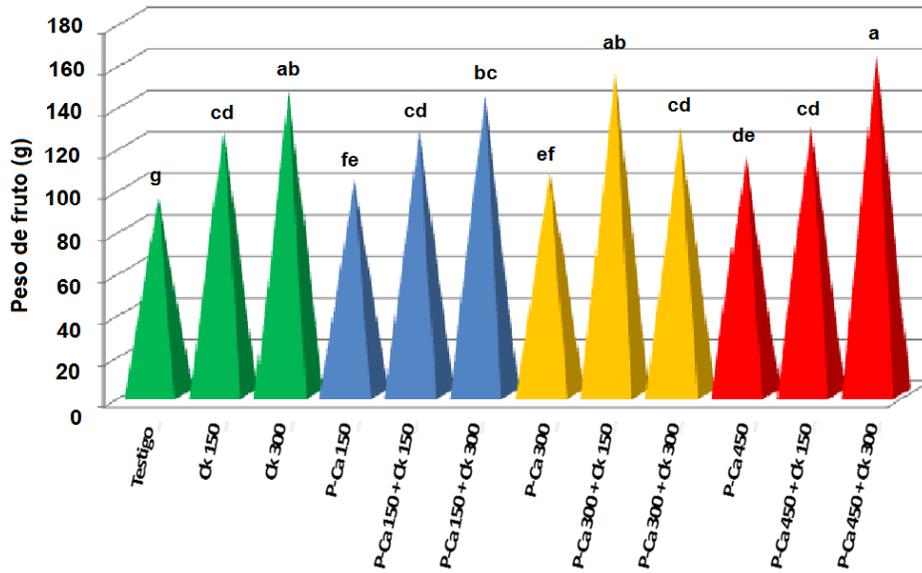


Fig. 2. Ramírez et al.

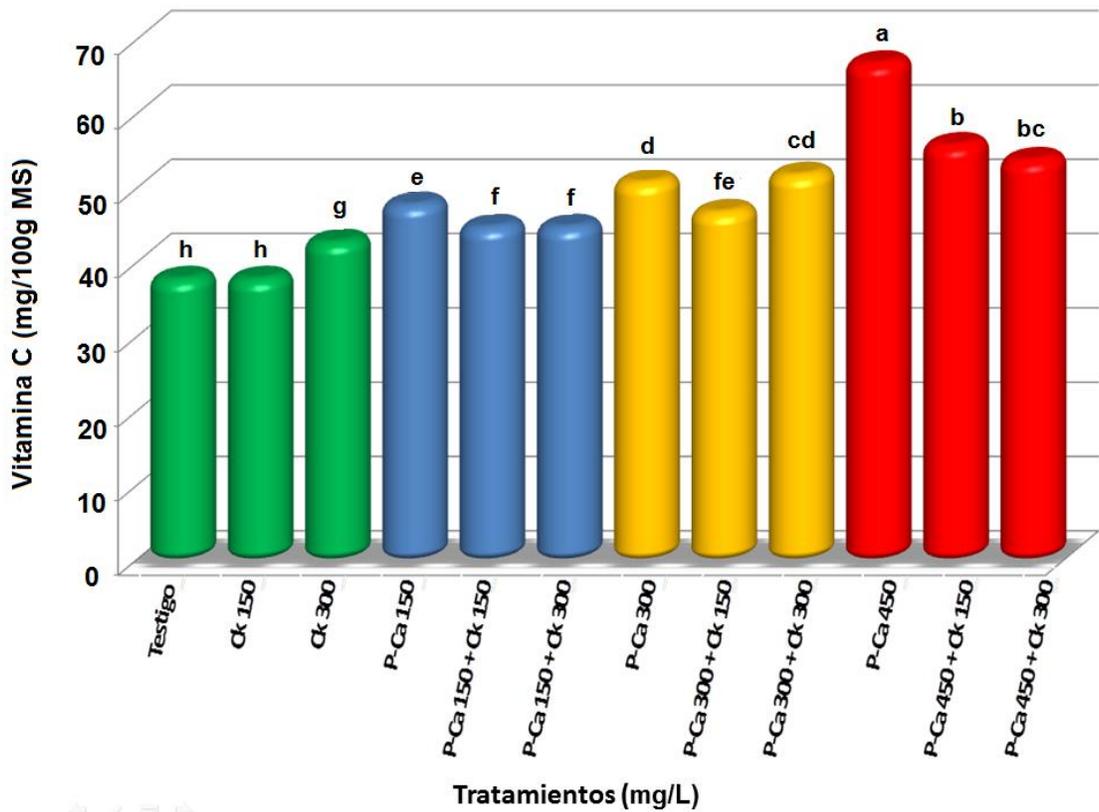


Fig. 3. Ramírez et al.

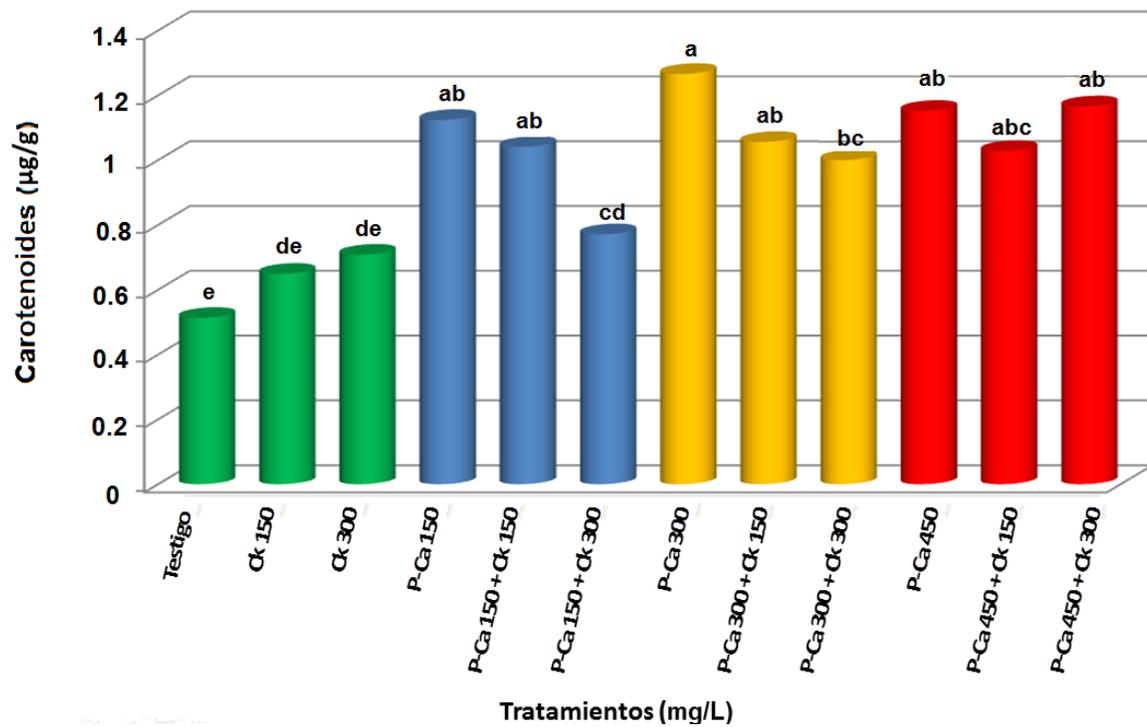


Fig. 4. Ramírez et al.

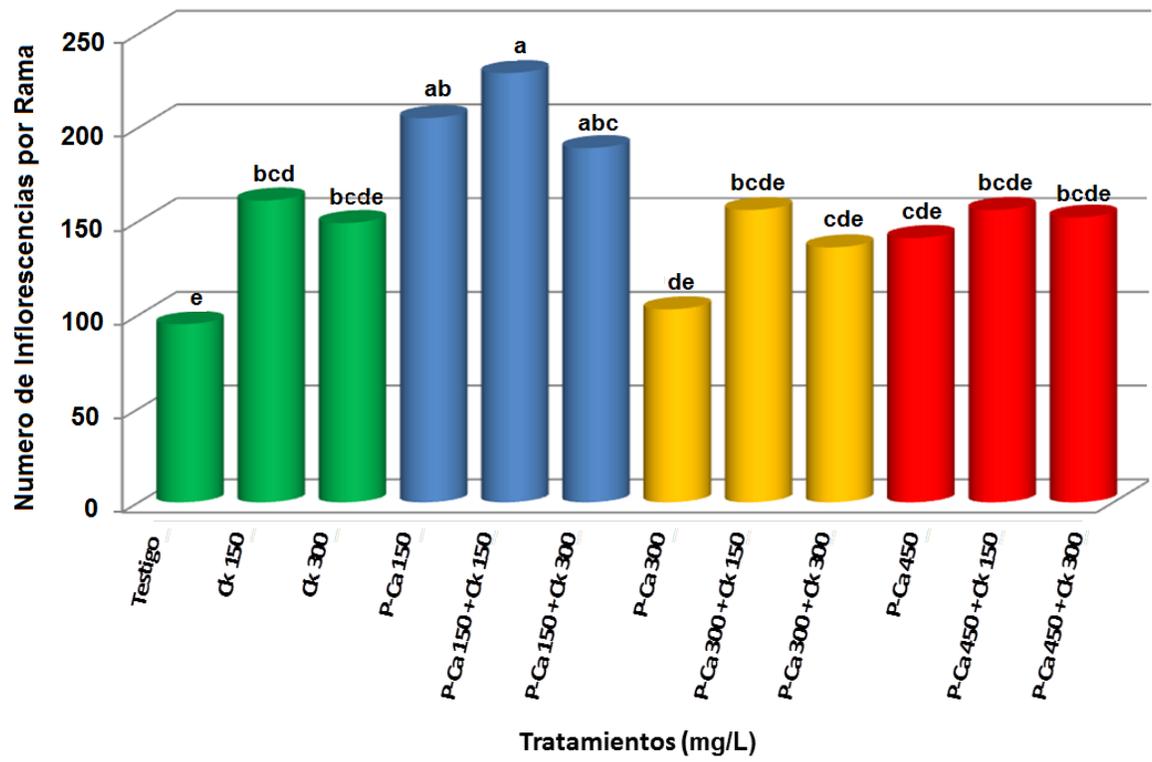


Fig. 5. Ramírez et al.

CONCLUSIONES GENERALES

Basándose en resultados obtenidos y las condiciones en que se realizó el trabajo experimental es posible concluir que:

Prohexadiona de calcio aplicado en árboles de manzano cv. Golden Delicious a dosis de 150, 300 y 450 mg/L reduce significativamente el crecimiento vegetativo; aumenta el contenido de carotenoides y vitamina C en frutas y estimula el retorno floral.

6- bencil amino purina + 6- furfuril adenina a concentraciones de 150 y 300 mg/L aplicadas en forma individual o en combinación con P-Ca aumentan el peso, contenido de carotenoides y vitamina C en frutas y estimulan la formación de yemas florales en árboles de manzano cv. Golden Delicious.

LITERATURA CITADA

- Bangreth, F. (2006). Flower induction in perennial fruit trees: still an enigma? *Acta. Hort.* 727:177-195.
- Becket, M. A., D. Abdelhami y A.A. EL-morsi (2009). Physiological response of *Vicia faba* to prohexadione-calcium under saline conditions. *Planta Daninha* 27(4): 769-779.
- Brown, R.G.S., H. Kawaide, Y.Y. Yang, W. Rademacher, y Y. Kamiya.(1997). Daminozide and prohexadione have similar modes of action as inhibitors of the late stages of gibberellin metabolism. *Plant Physiology* 101:309–313.
- Buban, T., I. Zatyko y I. Gonda. (1979).Effect of timing of nitrogen application on the development of flower buds of apples during the winter and on their winterhardiness. *Kertgazdasag* 11:17-31.
- Buban, T. (2000). The use of benzyladenine in orchard fruit growing: a mini review. *Plant Growth Regulators* 32: 381-390.
- Bukovac, M.J., P. Sabbatini y P.G. Schualier (2006).Modifying alternate bearing of spur-type “delicious” apple. *American Society for Horticultural Science* 41:1601-1611.
- Cleland, R.E. (1969). The gibberellins. In: M. B. Williams Physiology of plant growth and development. McGraw Hill, Maidenhead,Berkshire, England. p. 49–81.

- Cline, J.A. (2006). Apogee- A new plant bioregulator for apples. Factsheet 06-045. Queens printer of Ontario. Toronto, Ontario.
- Costa, G., C. Andreotti, F. Bucchi, E. Sabatini, C. Bazzi y S. Malaguti (2001). Prohexadione-Ca (Apogee): Growth regulation and reduced fire blight incidence in pear. *Horticulture Science* 36(5):931-933.
- Costa, G., E. Sabatini, F. Spinelli, M. Andreotti, C. Bomben y G. Vizzoto (2004). Two years of application of prohexadione-ca on apple. Effect on vegetative and cropping performance, fruit quality, return bloom and residual effect. *Acta Horticulturae* 653: 35-40.
- Cruz-Pérez, A.B., V.V. González-Hernández, R.M. Soto-Hernández, M.A. Gutiérrez-Espinoza, A.A. Gardea-Bejar y M. Pérez-Grajales (2007). Capsaicinoides, vitamina C y heterosis durante el desarrollo del fruto de chile manzano. *Agrociencia* 41: 627-635
- Dennis, Jr. F. G. y J. C. Nielsen (1999). Physiological factors affecting biennial bearing in tree fruit: the role of seeds in apple. *Horticulture Technology* 9:317-322.
- Engin, H. (2008). Scanning electron microscopy of floral initiation and developmental stages in sweet cherry under water deficits. *Bangladesh Botanical Journal* 37:15-19.
- Evans, L. y C.L. Rrgusci (1999). Mode of action, metabolism and uptake of BAS-125W prohexadione-calcium. *Horticulture Science* 34(7): 1200-1201.
- Faust, M., (1989) Physiology of temperate zone fruit trees. John Wiley and Sons, New York, N.Y.: 53-132.
- Foster, T., R. Johnston y A. Seleznyova. (2003). A morphological and quantitative characterization of early floral development in apple. *Annual of Botanics* 92:199-206.

- Forshey, C.G., D.C. Elfving y R.L. Stebbins (1992). Training and pruning of apple and pear trees. *American Society for Horticultural Science*. 600 Cameron St., Alexandria VA.: 22314-2562.
- Garner, L.C., Y. Zheng, T. Khuong y C.J. Lovatt (2010). Prohexadione-calcium affects shoot growth of evergreen subtropical woody perennials differently than deciduous temperate zone woody perennials – is it case of apples and oranges?. *Acta Horticulturae* 884:249-256.
- Gutiérrez, T., O. Hoyos, M. Paez (2007). Determinación del contenido de ácido ascórbico en uchuva (*Physalis peruviana* L.) por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). *Revista digital Scribd.com*.
- Hedden, P y Y. Kamiya (1997). Gibberellin biosynthesis: Enzymes, genes and their regulation. 1997. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48:431–460.
- Hoblyn, T. N. H., Grubb, A. C Painter y B. L Wates (1936). Studies on biennial bearing. *Journal of Pomology* 14:39-79.
- Hrotko, K., L. Magyar, C. Yao y Z. Ronay. (1997). Effect of repeated BA (benzyladenine) application on feathering of 'Idared' apple nursery trees. *Acta Horticulturae* 463:169-175.
- IARC. International Agency on Research for Cancer (1998). Carotenoids. *IARC Scientific Publications Vol. 2: 1-2*.
- Jackson, J. E. y J. W. Palmer. (1977). Effects of shade on the growth and cropping of apple trees. *Horticulture Science* 52:253-266.
- Jacob, R. (1996). Three eras of vitamin C discovery. *Subcellular Biochemistry* 25: pp. 1–16.
- Jimenez, A., G. Creissen, B. Kular, J. Ffirmin, S. Robinson, M. Verhoeyen, P. Mullineaux (2002). Changes in oxidative processes and components of

the antioxidant system during tomato fruit ripening. *Planta* 214(5): 751-758.

Jonkers, H. (1979). Biennial bearing in apple and pear: a literature survey. *Scientia Horticulturae* 11:303-317.

Kittikorn, M., K. Okawa, H. Ohara, M. Yokoyama, O. Ifuku, S. Yoshida y S. Kondo (2010). 9, 10-Ketol octadecanoic acid (KODA) levels and flower buds formation in apples. *Acta Horticulturae* 884:133-137.

Monselise, S.P. y E.E. Goldschmidt (1982). Alternate bearing in fruit trees. *American Society for Horticultural Science* 4:128-173.

Matill, H.A. (1947). Antioxidants. *Annual Review Biochemistry*. 16: 177–192.

Maxwell, B. B. y J. J. Kieber (2004). Cytokinin signal transduction, p. 321-349. In: P. J. Davies (ed.). *Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action!* Kluwer Academic, Dordrecht, Netherlands.

Nakayama, I., T. Miyazawa, M. Kobayashi, Y. Kamiya, H. Abe, y A. Sakurai (1990). Alternate bearing in fruit trees. *Horticulture. Review*. 4:128-173.

Nakayama, I., Y. Kamiya, M. Kobayashi, H. Abe, y A. Sakurai (1990). Effects of a plant growth regulator, prohexadione, on the biosynthesis of gibberellins in cell-free systems derived from immature seeds. *Plant Cellular Physiology*. 31:1183–1190.

Nakayama, I., Y. Kamiya, M. Kobayashi, H. Abe, y A. Sakurai (1990). Effects of a plant growth regulator, prohexadione, on the biosynthesis of gibberellins in cell-free systems derived from immature seeds. *Plant Cellular Physiology* 31:1183–1190.

Padayatty, S., A. Katz, Y. Wang, P. Eck, O. Kwon, J. Lee, S. Chen, C. Corpe, A. Dutta, S. Dutta y M. Levine (2003). Vitamin C as an Antioxidant:

- evaluation of its role in disease prevention. *American Journal of Nutrition* 22 (1) pp. 18–35
- Palmer, J. W., R. Diack, S. Seymour, D. Dayatilak y D. S. Tustin (2005). New approaches to the alleviation of barewood in young apple trees. *Journal of Horticulture Science and Biotechnology* 80:623-627.
- Petri, J.L., G.B. Leite, M. Couto y F.J. Hawerroth (2010). Effect of growth regulators on 'Gala' apple fructification. *Acta Horticulturae* 884:331-336.
- Pollock, J. I. y R. J. Mullin (1986). Vitamin C biosynthesis in prosimians: Evidence for the anthropoid affinity of Tarsius. *American Journal of Physical Anthropology* 73(1) : 65 - 70.
- Puhl, I., D. Treutter (2008). Ontogenetic variation of catechin biosynthesis as basis for infection and quiescence of *Botrytis cinerea* in developing strawberry fruits. *Journal of Plant Diseases and Protection* 115, 247-251.
- Rademacher, W. (2000). Growth retardants: Effects on gibberellins biosynthesis and other metabolic pathways. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 51: 501-531.
- Rademacher, W. (2004). Chemical regulation of shoot growth in fruit trees. *Acta Horticulturae* 653: 29-32.
- Rameau, C. (2010). Strigolactones, a novel class of plant hormone controlling shoot branching. *Comptes Rendus Biologies*. 333:344-349.
- Ramírez, H., J. C. Gómez-Castañeda, A. Benavides-Mendoza, V. Robledo-Torres, L. I. Encina-Rodríguez, C. A. Coello-Coutiño. (2003) Influencia de Prohexadiona-Ca sobre crecimiento vegetativo, producción y calidad de fruto en manzano. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 9(2): 279-289.
- Ramírez, H., M.R.M. Peralta, A. Benavides, L.A. Sánchez, T.V. Robledo, D.A.J. Hernández (2005). Efecto de prohexadiona-Ca en tomate y su

relación con la variación de la concentración de giberelinas y citocininas. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 11(2): 283-290.

Ramírez, H., B. Herrera, A. Benavides, J. Rancaño, V. Álvarez, C. Amado, A. Martínez (2010). Prohexadiona de calcio incrementa la capacidad antioxidante, el contenido de licopeno y la actividad enzimática en frutos de tomate floradade. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 16(3).

Ramírez, H., P.C. Leza-Hernández, A. Benavides, C. Amado-Ramírez, A. Martínez- Osorio y C.E. Rivera-Cruz (2010). Prohexadione-Ca modifies content of gibberelins and vitamin C, antioxidant capacity and enzymatic activity in apple. *Acta Horticulturae* 884:139-144.

Sachs, R. M. (1977). Nutrient diversion: an hypothesis to explain the chemical control of flowering. *Horticulture Science* 12:220-222.

SIAP (2011). http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350.

Sakakibara, H. (2004). Cytokinin biosynthesis and metabolism, p. 95-114. In: P. J. Davies (ed.). Plant hormones. Biosynthesis, signal transduction, action. Kluwer Academic, Dordrecht, Netherlands.

Tomas, P. (1975). Effect of post-harvest temperature on quality carotenoids and Ascorbic content of Alphonso mangoes on ripening. *Journal of Food Science* 40(4): 704-706.

UMMC. University of Maryland Medical Center (2002). Vitamin C (Ascorbic Acid).

Wilkie, J.D., M. Sedgley y T. Olsen (2008). Regulation of floral initiation in horticultural trees. *Journal of Experimental Botany* 59:3215-3228.

Wilson, LG. (1975). The Clinical Definition of Scurvy and the Discovery of Vitamin C. *Journal of the History of Medicine* pp: 40–60.

Wright, A. H., C. G. Embree, D. S. Nichols, R. K. Prange, P. A. Harrison y J. M. Delong (2006). Fruit mass, colour and yield of "Honeycrisp" apples are influenced by manually-adjusted fruit population and tree form. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 81:397-401.

Yuri, J.A., G. Lobos y V. Lepe (2002). Boletín técnico Pomáceas. 2 (5): 1-2.