

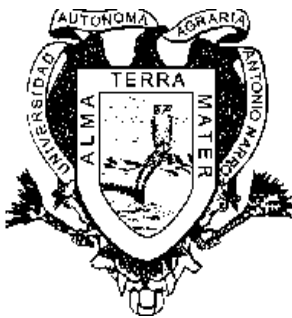
# **EFFECTO DE PROHEXADIONA DE CALCIO EN MANZANO Y SU RELACIÓN CON AUXINAS, GIBERELINAS Y CITOCININAS ENDÓGENAS**

**SARET ALONSO CORONA**

## **T E S I S**

*Presentada como Requisito Parcial para  
Obtener el Grado de:*

**MAESTRO EN CIENCIAS  
EN HORTICULTURA**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"  
PROGRAMA DE GRADUADOS**

*Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.*

*Febrero de 2005*

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

**EFFECTO DE PROHEXADIONA DE CALCIO EN MANZANO Y SU  
RELACIÓN CON AUXINAS, GIBERELINAS Y CITOCININAS  
ENDÓGENAS**

TESIS POR

**SARET ALONSO CORONA**

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

---

M. C. Leticia Escobedo Bocado

---

Dr. Jerónimo Landeros Flores  
Subdirector de Postgrado

Buнавista, Saltillo, Coahuila, Febrero de 2005

## **AGRADECIMIENTOS**

A **DIOS** por darme la dicha de estar viva y por mostrarme que cada día es una nueva oportunidad que tenemos para ser mejores.

A la **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**, por abrirme una vez mas sus puertas y darme la oportunidad de continuar preparándome profesionalmente.

Con todo respeto al **DR. HOMERO RAMÍREZ RODRÍGUEZ**, por el apoyo y tiempo brindado para la realización de esta investigación. Pero sobre todo mi sincero agradecimiento por la confianza que deposito en mi al fungir como asesor principal y por todos sus consejos.

Al **DR. ADALBERTO BENAVIDES MENDOZA**, por el apoyo brindado en esta investigación y por el entusiasmo con que transmite sus conocimientos.

A la **MC. LETICIA ESCOBEDO BOCARDO**, por su disponibilidad en la realización de este trabajo, pero sobre todo, por su amistad brindada durante este tiempo.

A la **ING. ROCÍO M. PERALTA MANJARREZ**, por su amistad, confianza y apoyo incondicional, por compartir conmigo todo este tiempo tan importante para mi.

Al **ING. JOEL L. TORRES GONZALEZ**, por su apoyo incondicional en la realización de este trabajo, por su valiosa amistad en este tiempo.

## DEDICATORIA

**A mis Padres Adauto Alonso y Concepción Corona**, con todo respeto y admiración, por su paciencia conmigo y porque me han enseñado a salir siempre adelante sin importar la adversidad y siempre están ahí para apoyarme.

**A mi Hijo**, por ser el sostén de mi vida, por la confianza y el amor que me das. A ti Eliud por ser el motivo para seguir adelante y por estar siempre ahí para apoyarme.

**A mis hermanos Levi y Osvaldo**, por el apoyo, comprensión y por el amor que siempre me han dado en las etapas más difíciles de mi vida.

**A mi hermana y cuñado Zamela y Baldemar**, por motivarme a seguir adelante y por el apoyo que siempre me han brindado.

**A mis sobrinos Kevin, Kenneth y Edwin**, por el cariño que siempre me han manifestado y por ser parte de la alegría de la familia.

**A mi cuñada y sobrinas Matilde, Sheryl y Melissa**, por ser parte de la familia.

**A mis amigos**, Rocío, Joel, Abel, Antero, Ing. Eliseo, Nacho, Hugo, Daniel, Juan Carlos, Jorge, Rosenda, Alexander, Fuantos, y a todas las personas que formaron parte especial en mi vida durante mi estancia en este lugar, por su gran amistad, apoyo incondicional y preocupación por mi, pero sobre todo por ser ya parte de una etapa importante de mi vida.

**COMPENDIO**

**EFFECTOS DE PROHEXADIONA DE CALCIO EN MANZANO Y SU  
RELACIÓN CON AUXINAS, GIBERELINAS Y CITOCININAS  
ENDÓGENAS**

**POR**

**SARET ALONSO CORONA**

**MAESTRIA**

**HORTICULTURA**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila. Febrero 2005**

**Dr. Homero Ramírez Rodríguez. - Asesor -**

**Palabras clave:** P-Ca, manzano, hormonas endógenas.

La investigación se realizó con el propósito de conocer los efectos del retardante prohexadiona de calcio<sup>®</sup> (P-Ca) sobre el crecimiento vegetativo, reproductivo y su relación con giberelinas, citocininas y auxinas endógenas en

manzano (*Malus domestica* Borkh) cultivar Royal Gala. Se aplicó el retardante de crecimiento en la primavera cuando el brote alcanzó 5 cm de longitud en concentraciones de 0 (testigo), 125, 175 y 250 mg/L. Los resultados mostraron que las concentraciones utilizadas provocaron una notable reducción en la longitud de la rama y longitud del entrenudo. El número de hojas por rama se redujo con cualquier dosis. El cuajado, peso, sólidos solubles, firmeza y producción de frutos se incrementaron con Prohexadiona de Ca en concentraciones de 175 y 250 mg/L.

La dosis 250 mg/L de P-Ca, produjo una reducción en los niveles de giberelinas y auxinas; y un aumento en citocininas en meristemos apicales. En estos tejidos se identificaron las giberelinas A<sub>9</sub>, A<sub>20</sub>, A<sub>51</sub> y A<sub>53</sub>; zeatina y ácido indolacético (AIA). En ápices testigo, además de zeatina y AIA, se identificaron las giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>7</sub>, A<sub>9</sub>, A<sub>51</sub> y A<sub>53</sub>. En un análisis complementario se observó que en semillas inmaduras de árboles tratados con 250 mg/L de P-Ca, el perfil cualitativo de hormonas endógenas no fue modificado.

**ABSTRACT**

**EFFECTS OF PROHEXADIONE-CA IN APPLE AND ITS RELATIONSHIP TO  
AUXINS, GIBBERELLINS AND CYTOKININS ENDOGENOUS**

**BY**

**SARET ALONSO CORONA**

**MAESTRIA**

**HORTICULTURA**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA  
ANTONIO NARRO**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila. February 2005**

**Dr. Homero Ramírez Rodríguez. - Adviser -**

**Key words:** P-Ca, apple, endogenous hormones.

This study was conducted with the purpose to learn on the effects of prohexadione-calcium<sup>®</sup> (P-Ca) in vegetative and fruiting growth in apple cv Royal Gala and relate them with the levels of endogenous gibberellins, cytokinins and auxins in shoot tips and in immature seeds.

The growth retardant was sprayed on trees early in the spring when shoot growth reached 5 cm in length. The concentration dosages of P-Ca were 0 (control), 125, 175 and 250 mg/L. The results have shown that P-Ca at any concentration reduces shoot and internodal final length. The leaf number per shoot was also reduced in all P-Ca treated trees. The growth retardant at 175 and 250 mg/L increased total yield per tree reflected with a higher fruit set and fruit weight. Harvested fruits from these treatments showed an increase in soluble solids and firmness.

The endogenous hormone status was analyzed on apple trees treated with Prohexadione-Ca at 250 mg/L. The levels of gibberellins and auxins in shoot tips was decreased soon after the P-Ca application; whereas the cytokinin content increased. In these P-Ca tissues, it was possible to identify gibberellins A<sub>9</sub>, A<sub>20</sub>, A<sub>51</sub> and A<sub>53</sub>; zeatin and IAA. In control samples, zeatin, IAA and gibberellins A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>7</sub>, A<sub>9</sub>, A<sub>51</sub> and A<sub>53</sub> were identified. Prohexadione-Ca did not modify the endogenous hormone profile in immature seeds.



## INDICE DE CONTENIDO

	<b>PÁGINA</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Objetivos .....	4
Hipótesis .....	4
<b>REVISION DE LITERATURA</b> .....	5
Aspectos generales del manzano .....	5
Importancia del control vegetativo.....	5
Crecimiento y desarrollo vegetativo .....	6
Biorreguladores de crecimiento .....	7
Retardantes de crecimiento .....	7
Prohexadiona de Calcio .....	9
Acción del Prohexadiona de Calcio .....	9
Metabolismo de P-Ca .....	10
Propiedades toxicológicas y ecotoxicológicas	10
Absorción y translocación .....	10
<b>ARTICULO</b> .....	12
<b>CONCLUSIONES</b> .....	32
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	33

## INTRODUCCIÓN

En México, el cultivo del manzano fue introducido durante la colonización. Su distribución aparece en regiones templadas de México. Los principales estados productores de este frutal son: Chihuahua, Coahuila, Durango, Puebla y Zacatecas; que concentran aproximadamente el 80 por ciento de la superficie plantada. La superficie cosechada de manzana a nivel nacional es de 60 998 Ha con una producción de 442 679 Toneladas anuales (Ramírez y Benavides, 2003).

El cultivo del manzano en Coahuila representa una actividad de gran importancia frutícola ya que contribuye en la producción de alimentos y en la generación de empleos en el medio rural. La producción y la calidad de la fruta de manzana ha sido afectada como consecuencia de las condiciones climatológicas en la región de Arteaga (Ramírez, 2000).

Una cosecha competitiva en el mercado internacional de plantaciones nuevas de manzano depende entre otros factores, del manejo en el balance vegetativo y reproductivo en el desarrollo de los árboles jóvenes; lo ideal en una huerta es que pase rápidamente a un estado reproductivo. Uno de los principales problemas en manzano es el control vegetativo, ya que, se conoce

que los manzanos enanos o semienanos, crecen más despacio que los estándar. Lo ideal sería tener manzanos que podamos controlar su crecimiento además de obtener fruta temprana (Owens, 1999). Cuando los árboles están limitados en fotoasimilados, por baja luminosidad, el crecimiento de las hojas jóvenes es favorecido a expensas del desarrollo de otras estructuras de la planta y la formación del fruto. Evitar un crecimiento excesivo de ramas, contribuirá a una mejor penetración de la luz y a un incremento de asimilados para la formación y desarrollo de frutos (Basak, *et al.*, 2000), ya que al limitar el número de puntos de crecimiento, se favorece el flujo de fotoasimilados hacia el ápice terminal, el tallo, las raíces y el fruto que está diferenciándose. Un buen control vegetativo permite mantener una producción competitiva con buena calidad de frutos cosechados y vida productiva de la planta. La poda oportuna juega un papel importante en la producción de manzano. Lo anterior, cuando es adecuado se refleja en un buen balance entre las fases vegetativa y reproductiva, lo que contribuye a una producción consistente durante la vida productiva del frutal (Bangerth, 1997, Fallahi, 1999). Alternativamente, para controlar la altura que en forma natural alcanzan los árboles debe existir un equilibrio entre el crecimiento vegetativo y reproductivo que puede lograrse empleando retardantes de crecimiento (Greene, 1991, Evans, *et al.*, 1997, 1999), del tipo de las antigiberelinas, para frenar el efecto no deseado de sombreado (Pilatti, 1997).

Se han evaluado distintos productos con acción en la inhibición de la biosíntesis de giberelinas, tales como, daminozida, cloromequat y paclobutrazol

(Rademacher, *et al.*, 1998). Con el uso de esas sustancias, se ha demostrado que inhiben la elongación del tallo y promueven la floración en manzano (Edgerton, 1986). Sin embargo, Owens y Stover (1999), refieren que estos compuestos tienen la desventaja de su persistencia en el árbol y de producir efectos tóxicos en humanos, características que prohíben en la actualidad su uso en frutales y otros cultivos hortícolas, originado en la actualidad la falta de opciones químicas para el manejo del manzano.

El retardante de crecimiento Prohexadiona-Ca (P-Ca) ha sido reportado como una alternativa para el control adecuado del crecimiento vegetativo en árboles de manzano (Unrath, 1999). Este compuesto se caracteriza por bloquear la biosíntesis de giberelinas en el meristemo apical con nula toxicidad y persistencia limitada en tejidos vegetales (Rademacher *et al.*, 1998). Los efectos de este retardante de crecimiento no han sido relacionados con citocininas y auxinas en ese tejido. El prohexadiona- Ca, además de reducir el crecimiento vegetativo en manzano, incrementa el cuajado de fruto e induce la formación de yemas florales (Basak y Rademacher, 2000). Estas experiencias se han obtenido en Estados Unidos y países europeos. En base a lo anterior, la presente investigación plantea los siguientes objetivos e hipótesis:

## Objetivos

- Evaluar tres concentraciones de P-Ca en manzano (*Malus domestica* Borkh) en la reducción del crecimiento vegetativo, producción y calidad de fruto.
- Identificar cualitativamente el efecto de P-Ca sobre los niveles endógenos de auxinas, giberelinas y citocininas en ápices de ramas y semillas de frutos en manzano 'Royal Gala'

## Hipótesis

Prohexadiona de Calcio produce efectos retardantes en el crecimiento vegetativo en árboles de manzano e influye directamente en la producción y calidad de la misma.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Aspectos generales del manzano

El manzano pertenece al género *Malus*, de la familia Rosaceae. Es un árbol caducifolio distribuido principalmente en las zonas templadas en latitudes de 35 a 55°, en donde se tiene suficiente frío en invierno. Investigaciones recientes han permitido extender el cultivo a regiones con condiciones menos propicias de explotación, gracias a la utilización de cultivares con bajas necesidades de frío y a sustancias hormonales en armonía con la naturaleza como los biorreguladores.

El fruto se caracteriza por la unión del ovario y el receptáculo. Los botánicos consideran que el fruto “pomo” es un tallo modificado. Tienen cinco carpelos plurisemillados, formados a partir de tejidos del mesocarpo y del exocarpo. Botánicamente hablando, la pulpa se considera médula por dentro de la línea del corazón (Jackson y Palmer, 2003).

## Importancia del control vegetativo

La estructura básica de las plantas determina los sistemas integrales de manejo. Uno de los principales problemas en árboles de manzano, es el control vegetativo. Su manejo apropiado tiene gran importancia en la producción de frutos, ya que al limitar el número de puntos de crecimiento de la planta, se favorece el flujo de fotoasimilados hacia el ápice terminal, el tallo, las raíces y hacia el racimo que está diferenciándose, evitando un crecimiento excesivo de brotes, contribuyendo a una mejor penetración de luz y a un incremento de asimilados para la formación y desarrollo de frutos. Además, hay que considerar que un alto índice de área foliar no permite una máxima captación de luz, lo que origina sombreado y se tiene un problema en el manejo (Ramírez *et al.*, 2003).

Ante la tendencia que tiene el manzano al crecimiento vegetativo, es importante considerar como alternativa de manejo el metabolismo hormonal de giberelinas, auxinas y citocininas, por su directa participación en el desarrollo vegetativo y reproducción de esta especie (Ramírez *et al.*, 2004).

## Crecimiento y desarrollo vegetativo

La poda en manzano, es una técnica alterna que contribuye a un aumento en la producción de esta especie frutícola, con su aplicación se pretende limitar el número de puntos de crecimiento del árbol, favoreciendo el flujo de

fotoasimilados hacia el ápice terminal, el tallo, las raíces y eventualmente hacia el racimo que esta diferenciándose. La aparición de brotes en la base del tronco o ramas entre ángulos bajos reducen la disponibilidad de alimentos para el resto del árbol por la competencia que causan, lo que ocasiona debilitamiento de los dardos y reducción en la calidad del fruto. La eliminación de brotes debe realizarse lo mas temprano posible, provocando una herida pequeña, lo que es deseable desde el punto de vista sanitario, ya que un brote extraído de gran tamaño significa una perdida de energía que resiente la producción (Rojas y Ramírez, 1993).

#### Biorreguladores de crecimiento

Las hormonas vegetales son compuestos sintetizados por las plantas en concentraciones extremadamente bajas, las cuales provocan respuestas fisiológicas específicas ya sea en forma local o bien son translocadas a otras regiones de la planta para modificar su crecimiento y desarrollo (Yáñez, 2002).

Las hormonas pueden considerarse esenciales en la fisiología vegetal ya que, si estas no se producen no pueden ser utilizadas oportunamente en el sitio de acción, provocando en la planta un desbalance en su crecimiento y desarrollo alterando la producción y calidad de sus frutos.



## Retardantes de crecimiento

Los retardantes de crecimiento son biorreguladores que bloquean temporalmente la división y elongación celular. En la mayoría de los casos no causan malformaciones, incrementan el color verde en el follaje e inducen con frecuencia la formación de yemas florales. Su acción es presumiblemente en la parte subapical cuando retardan el crecimiento vegetativo. Su acción parece concentrarse en el bloqueo de la síntesis de giberelinas o ácido indolacético, o bien su desplazamiento en la planta (Rademacher, 1991).

En el manzano cuando la longitud de entrenudos es excesiva y amenaza con convertirse en un problema para el manejo, existe la posibilidad de utilizar retardantes de crecimiento del tipo de las antigiberelinas, para frenar este efecto no deseado de sombreado. La utilización de retardantes de crecimiento favorecen el cuajado de frutos, como resultado de su inhibición en la síntesis de giberelinas. Es importante considerar que mientras las auxinas y giberelinas se deben aplicar a la flor para activar su metabolismo, los retardantes se deben aplicar a las hojas. Estos órganos los translocan a los ápices en donde causan un retraso en el crecimiento vegetativo y de esta forma mas asimilados son utilizados por las flores y frutos (Jackson y Looney, 2003).

Se han evaluado distintos productos con acciones en la inhibición de la biosíntesis de giberelinas. Dentro de ellos el clormequat [(2-cloroetil) trimetilamonio cloruro], daminozida (ácido succínico 2,2-dimetilhidracida) y

paclobutrazol  $\beta$ -[(4-clorofenil)metil]- $\alpha$ -(1, 1-dimetietil)1H-1, 2, 4,-triazole-1-etanol] (Edgerton, 1986; Quinlan y Richardson, 1984; Steffens *et al.*, 1992). Aunque estos productos inhiben la elongación y en algunas ocasiones promueven la floración en plantas, presentan el inconveniente de una extensa persistencia y efectos toxicológicos al ser humano y por lo tanto tienen restricciones de uso (Owens, 1999).

### Prohexadiona de Calcio

Prohexadiona de Calcio es un nuevo retardante de crecimiento que promete beneficios para la horticultura moderna (Fallahi, 1999).

Prohexadiona de Calcio (P-Ca); Ca-(3-oxido-4-propionil-5-oxo-3-ciclohexano-carboxilato) es un inhibidor de la biosíntesis de giberelinas con baja toxicidad y limitada persistencia en el tejido vegetal. Induce la yema terminal más o menos dos semanas después de la aplicación y es totalmente metabolizado 4 a 5 semanas después de la formación de la misma (Evans *et al.*, 1997).

Acción del Prohexadiona de Calcio. P-Ca inhibe la biosíntesis de giberelinas (GAs) consecuentemente reduciendo el crecimiento longitudinal de meristemos. La estructura de prohexadiona es similar a aquellas de ácido 2-oxoglutámico que es un co-substrato de dioxidasas catalizando hidroxilaciones involucradas en reacciones químicas de la biosíntesis de giberelinas.

El primer blanco de prohexadiona de calcio parece ser la 3- $\beta$ -hidroxilación, entre la reacción que estimula la formación de GA<sub>1</sub> como consecuencia, esta aplicación reduce los niveles de giberelinas activas y causa la acumulación de su inmediato precursor GA<sub>20</sub> inactivo (Evans y Regusci, 1999).

Con relación a la dioxigenasa involucrada en el metabolismo de flavonoides puede también ser afectado por P-Ca y compuestos relacionados (Rademacher *et al.*, 1998). Su influencia integral en el sistema hormonal endógeno aun se desconoce.

Metabolismo de P-Ca. P-Ca en plantas se degrada en pocas semanas. Después de la 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 y Regusci, 1999).

En los suelos, el P-Ca se descompone, la mayor parte en dióxido de carbono, con una media de vida de 7 días. En agua, el P-Ca se degrada por fotólisis a dióxido de carbono y otros productos naturales. En mamíferos, P-Ca es rápidamente absorbido y después excretado (Evans y Regusci, 1999).

Propiedades toxicológicas y ecotoxicológicas. El material no es mutagénico, carcinogénico o teratogénico. Prohexadiona de Ca no tiene efectos negativos

en pájaros, peces, abejas o en los microorganismos del suelo (Evans y Regusci, 1999).

Absorción y translocación. P-Ca es absorbido en manzanos por el follaje, para una máxima absorción requiere un mínimo de 8 horas, y es transportado acropétalmente a los puntos individuales de crecimiento (meristemas). Los movimientos basipétalos son mínimos. P-Ca no persiste en la planta (Evans y Regusci, 1999).

Las propiedades conocidas actualmente de P-Ca, la ubican como un nuevo biorregulador de uso prometedor en la producción hortícola, por lo tanto, es necesario continuar evaluándolo y en forma simultánea investigar sobre su posible mecanismo de acción.

## **Efecto de prohexadiona de calcio en manzano y su relación con auxinas, giberelinas y citocininas endógenas**

Homero Ramírez\*<sup>1</sup>, Saret Alonso<sup>1</sup> y Adalberto Benavides<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. Tel.: (01) (844) 4 11 03 06, E-mail: homeror@terra.com.mx

**Resumen.** La investigación se realizó con el propósito de conocer los efectos del retardante prohexadiona de calcio<sup>®</sup> (P-Ca) sobre el crecimiento vegetativo, reproductivo y su relación con giberelinas, citocininas y auxinas endógenas en manzano (*Malus domestica* Borkh) cultivar Royal Gala. Se aplicó el retardante de crecimiento en la primavera cuando el brote alcanzó 5 cm de longitud en concentraciones de 0 (testigo), 125, 175 y 250 mg/L. Los resultados mostraron que las concentraciones utilizadas provocaron una notable reducción en la longitud de la rama y longitud del entrenudo. El número de hojas por rama se redujo con cualquier dosis. El cuajado, peso, sólidos solubles, firmeza y producción de frutos se incrementaron con Prohexadiona de Ca en concentraciones de 175 y 250 mg/L. La dosis 250 mg/L de P-Ca, produjo una reducción en los niveles de giberelinas y auxinas; y un aumento en citocininas en meristemas apicales. En estos tejidos se identificaron las giberelinas A<sub>9</sub>, A<sub>20</sub>, A<sub>51</sub> y A<sub>53</sub>; zeatina y ácido indolacético (AIA). En ápices testigo, además de zeatina y AIA, se identificaron las giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>7</sub>, A<sub>9</sub>, A<sub>51</sub> y A<sub>53</sub>. En un análisis complementario se observó que en semillas inmaduras de árboles tratados con 250 mg/L de P-Ca, el perfil cualitativo de hormonas endógenas no fue modificado.

**Palabras clave: P-Ca, manzano, hormonas endógenas.**

**Abstract.** This study was conducted with the purpose to learn on the effects of prohexadione-calcium<sup>®</sup> (P-Ca) in vegetative and fruiting growth in apple cv Royal Gala and relate them with the levels of endogenous gibberellins, cytokinins and auxins in shoot tips and in immature seeds.

The growth retardant was sprayed on trees early in the spring when shoot growth reached 5 cm in length. The concentration dosages of P-Ca were 0 (control), 125, 175 and 250 mg/L. The results have shown that P-Ca at any concentration reduces shoot and internodal final length. The leaf number per shoot was also reduced in all P-Ca treated trees. The growth retardant at 175 and 250 mg/L increased total yield per tree reflected with a higher fruit set and fruit weight. Harvested fruits from these treatments showed an increase in soluble solids and firmness.

The endogenous hormone status was analyzed on apple trees treated with Prohexadione-Ca at 250 mg/L. The levels of gibberellins and auxins in shoot tips was decreased soon after the P-Ca application; whereas the cytokinin content increased. In these P-Ca tissues, it was possible to identify gibberellins A<sub>9</sub>, A<sub>20</sub>, A<sub>51</sub> and A<sub>53</sub>; zeatin and IAA. In control samples, zeatin, IAA and gibberellins A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>7</sub>, A<sub>9</sub>, A<sub>51</sub> and A<sub>53</sub> were identified. Prohexadione-Ca did not modify the endogenous hormone profile in immature seeds.

**Key words:** P-Ca, apple, endogenous hormones.

## **Introducción**

El control del crecimiento vegetativo en manzano es de gran interés en el manejo de esta especie en la región frutícola de Arteaga, Coahuila, México [1]. Evitando un crecimiento excesivo de ramas, contribuirá a una mejor penetración de la luz y un incremento de asimilados para la formación y desarrollo de frutos [2]. La poda oportuna, juega un papel importante en la producción de manzano. Lo anterior, cuando es adecuado se refleja en un buen balance entre las fases vegetativa y reproductiva. Esto, contribuye a una producción consistente durante la vida productiva del frutal [3, 4]. Alternativamente, un equilibrio entre el crecimiento vegetativo y reproductivo en manzano puede también lograrse empleando retardantes de crecimiento [5, 6, 7].

Se han utilizado inhibidores de la biosíntesis de giberelinas para restringir el crecimiento vegetativo y cambiar el balance de crecimiento vegetativo a reproductivo como: clomequat, daminozida y paclobutrazol [8]. Con el uso de esas sustancias, se ha demostrado que estas, inhiben la elongación del tallo y promueven la floración en manzano [9, 1]. Sin embargo, todos ellos tienen la desventaja de su persistencia en el árbol y de producir efectos tóxicos en humanos. Estas características prohíben en la actualidad su uso en frutales y otros cultivos hortícolas [10]. Esta situación ha originado en la actualidad la falta de opciones químicas para el manejo del manzano.

El retardante de crecimiento prohexadiona-Ca (calcio 3-oxido-4-propionil-5-oxo-3-cicloexano-carboxilato) ha sido reportado como una alternativa para el control adecuado del crecimiento vegetativo en árboles de manzano [11]. Este compuesto se caracteriza por bloquear la biosíntesis de giberelinas en el

meristemo apical con nula toxicidad en plantas y con una persistencia extremadamente limitada en tejidos vegetales [8]. Los efectos de este retardante de crecimiento no han sido relacionados con citocininas y auxinas en ese tejido. El prohexadiona de calcio (P-Ca), además de reducir el crecimiento vegetativo en manzano, incrementa el cuajado de fruto e induce la formación de yemas florales [2]. Estas experiencias se han obtenido en Estados Unidos y países europeos.

En base a lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar bajo las condiciones de Arteaga, Coahuila la efectividad del retardante de crecimiento prohexadiona de calcio (P-Ca) en el crecimiento vegetativo, producción y calidad de fruto y relacionar sus efectos con la presencia de auxinas, giberelinas y citocininas en ápices de ramas y semillas de frutos en manzano 'Royal Gala'.

## **Resultados y discusión**

### **Experimento 1: Efectos de P-Ca en parámetros pomológicos**

En el crecimiento vegetativo (Cuadro 1), la influencia del retardante P-Ca a concentraciones de 125, 175 y 250 mg/L originó una reducción significativa en la longitud final de la rama, pero el efecto fue mayor en las concentraciones de 175 y 250 mg/L las cuales, mostraron una diferencia de hasta 30 cm de longitud con respecto al testigo. El efecto del P-Ca en sus diferentes concentraciones también estuvo asociado con una notable reducción en la longitud de entrenudos y el número de hojas por rama. Esto corrobora los resultados obtenidos en investigaciones con diferentes cultivares de manzano [2, 14, 8] y



peral [15], donde el P-Ca ha mostrado ser un potente reductor del crecimiento vegetativo. Efecto que ha sido explicado por su acción como un bloqueador de síntesis de giberelinas biológicamente activas [6, 16]. Esta condición podría originar una redistribución de los asimilados disponibles hacia flores y frutos de reciente formación y por lo tanto, aumentando el cuajado de frutos como se observa en el cuadro 2. Las diferentes concentraciones de P-Ca mostraron una mayor producción por árbol en el cultivar Royal Gala con respecto al testigo, aunque la diferencia fue mayor a la concentración de 250 mg/L. Las características pomológicas observadas en los frutos de árboles asperjados con P-Ca a concentraciones de 125, 175 y 250 mg/L fueron, un bajo contenido de sólidos solubles totales y un mayor peso del fruto y firmeza (Cuadro 2). En investigaciones previas, se reportó que lo anterior es una característica del retardante [17]. La fruta de manzana cosechada en esas condiciones, es ideal cuando se desea conservarla en atmósfera controlada y obtener un valor agregado durante la comercialización de la misma. Los resultados preliminares obtenidos en el presente estudio abren una alternativa interesante con este retardante de crecimiento en el manejo del manzano en Arteaga, Coahuila, ya que son características que el productor de manzana desea tener en la fruta que cosecha. La siguiente fase fue tratar de conocer el mecanismo de acción del retardante de crecimiento desde el punto de vista hormonal.

### **Experimento 2: Efecto de P-Ca en hormonas endógenas**

Los tratamientos con prohexadiona de calcio originaron una reducción significativa ( $P \leq 0.05$ ) en los niveles endógenos de giberelinas en los ápices

analizados de manzano entre 2 y 17 días después del tratamiento (Figura 1). La recuperación de éstas hormonas en el tejido vegetativo ocurrió después de esta fecha adquiriendo su máximo nivel 24 días después del mismo. A partir de esa fecha y hasta el día 52 los niveles de giberelinas de la dosis 250 mg/L fueron mayores que en los ápices de las plantas testigo.

El contenido de citocininas endógenas en los ápices de manzano que recibieron el tratamiento de P-Ca mostraron un patrón opuesto al observado en las giberelinas a partir del día 2 posterior al tratamiento. Se puede observar que el retardante de crecimiento indujo un incremento significativo en el contenido de citocininas ( $P \leq 0.05$ ). El comportamiento de ésta hormona natural, presentó una reducción en su nivel el día 17 y recuperándose para el día 24. El nivel mínimo se presentó a los 52 días posterior al tratamiento con P-Ca (Figura 2).

El contenido de auxinas endógenas en los ápices de manzano que recibieron el tratamiento de P-Ca mostraron cambios en los niveles de concentración. A partir del inicio de evaluación, las auxinas en este tratamiento fueron menores. Se pudo observar que el retardante de crecimiento indujo una disminución significativa en el contenido de auxinas ( $P \leq 0.05$ ) en los días 24, 31 y 38 después del tratamiento, presentando el nivel mínimo a los 52 días posterior al tratamiento con P-Ca (Figura 3).

Los resultados de los análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masas permitieron identificar en las muestras de ápices tratados con el retardante de crecimiento las giberelinas  $A_9$ ,  $A_{20}$ ,  $A_{51}$ ,  $A_{53}$ ; zeatina y AIA (Cuadro 3). Los ápices testigo mostraron la presencia de las giberelinas  $A_1$ ,  $A_4$ ,  $A_7$ ,  $A_9$ ,

A<sub>51</sub>, A<sub>53</sub>; zeatina y AIA (Cuadro 3). En las muestras de semillas de ambos tratamientos se identificó las giberelina A<sub>1</sub>,A<sub>4</sub>; zeatina y AIA.

Los cambios en el estatus hormonal de plantas vegetales causadas por la aplicación de retardantes de crecimiento está claramente ilustrada en varias especies hortofrutícolas [18]. Prohexadiona de Ca ha sido clasificado recientemente como un inhibidor de la síntesis de giberelinas biológicamente activas como la A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub> y A<sub>7</sub> [6]. En el presente trabajo se observó una reducción en la actividad biológica de giberelinas endógenas en los ápices de árboles que recibieron el tratamiento con P-Ca (Figura 1). Esta reducción de actividad biológica refleja la ausencia de las giberelinas A<sub>1</sub> y A<sub>4</sub> en las muestras de esos tejidos (Cuadro 3). Las experiencias observadas en la reducción de crecimiento vegetativo de frutales como durazno, ciruelo y manzano que recibieron aplicaciones de P-Ca [16, 5], coinciden con un crecimiento menor observado en el presente trabajo (Cuadro 1). Lo anterior indica que el retardante de crecimiento aplicado ejerce la reducción del crecimiento vegetativo como resultado de una inhibición temporal en la síntesis de giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub> y A<sub>7</sub>. En la presente investigación se observó en los ápices de árboles que recibieron el tratamiento con P-Ca un incremento en los niveles de citocininas endógenas en la mayor parte de las fechas muestreadas (Figura 2). Una de las hipótesis de el estímulo pomológico causado por el P-Ca en frutales (Cuadro 1 y 2) se ha ligado a un aumento en el contenido de citocininas en órganos clave como los ápices y hojas jóvenes [6, 9, 10]. En base a lo anterior los resultados en este estudio confirman lo anteriormente referido.

En la figura 3 se puede observar que los niveles de auxinas en los ápices de manzano fueron menores en los árboles que recibieron el tratamiento con el retardante de crecimiento. En trabajos con frutales en donde se asperjaron auxinas endógenas como ácido naftoixácetico, originaron incrementos modestos en el crecimiento vegetativo [3]. Sin embargo, cuando se aplicó un retardante de crecimiento como Alar no se observaron cambios drásticos en las auxinas endógenas de frutales estudiados [11]. Por lo tanto, en la actualidad no existe una certidumbre sobre la importancia directa de los efectos observados con auxinas endógenas en el presente estudio. El perfil hormonal en las semillas muestreadas en testigos y tratamientos con P-Ca no mostró diferencia alguna. En ambos tratamientos fue consistente la presencia de giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>; zeatina y AIA. Una explicación sobre este particular, se relaciona con la desnaturalización tan rápida que sufre el P-Ca una vez que ingresa al tejido, la cual se presenta entre 10 y 15 días posteriores al tratamiento externo [8, 11, 13, 15]. El tiempo que transcurrió entre la fecha de aplicación del retardante de crecimiento y el muestreo de las semillas fue de aproximadamente 8 semanas; por lo tanto, para entonces la desnaturalización de la molécula de ese compuesto había ocurrido y por lo tanto su probable efecto en esos tejidos no sucedió.

Los resultados observados en la presente investigación, en particular la reducción de giberelinas y auxinas (Figuras 1 y 4; Cuadro 3), y el aumento de citocininas (Figura 2) son consistentes con los resultados obtenidos en el desarrollo vegetativo y pomológico antes señalados, fortaleciendo la hipótesis

de que las giberelinas, auxinas y citocininas tienen una influencia directa en el control del desarrollo de los frutos [7, 10 19].

### **Conclusiones**

Se concluye que prohexadiona de calcio a concentraciones de 125, 175 y 250 mg/L aplicadas durante la primavera al cultivar de manzano Royal Gala reduce el crecimiento vegetativo y aumenta el cuajado de fruta y la producción por árbol notablemente. El P-Ca, produce frutos con mayor firmeza y menor contenido de sólidos solubles totales (°Brix).

La aplicación de Prohexadiona de Ca en la concentración de 250 mg/L reduce los niveles de giberelinas y auxinas; y aumenta las citocininas en meristemas apicales. La síntesis de giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, y A<sub>7</sub> son inhibidas por el retardante de crecimiento a la concentración referida.

### **Sección experimental**

El presente trabajo se llevó a cabo durante el periodo 2002-2003 en la huerta Guadalupe en Huachichil municipio de Arteaga, Coahuila México (25° 13' N) y en el laboratorio de horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

#### **Experimento 1: Efectos de P-Ca en parámetros pomológicos**

Se utilizó un lote de 16 árboles del cultivar de manzana Royal Gala de 10 años de edad injertados en MM106, con sistema de líder central a una densidad de 700 árboles por hectárea. Cuando los brotes alcanzaron 5 cm de crecimiento

nuevo al inicio de la primavera del 2002 (abril 17), los árboles fueron asperjados con 0, 125, 175 y 250 mg/L del retardante prohexadiona de calcio (P-Ca). Se utilizó el dispersante polioxietilenopolipro-poxipropanol (1 mL/L de agua) en cada aspersion. La aspersion se repitió dos semanas después de la primera aplicación. El diseño experimental que se empleó fue completamente al azar, con cuatro repeticiones; seleccionando cuatro ramas de la parte media por árbol en base a los puntos cardinales para su evaluación. Los efectos de los tratamientos fueron evaluados desde la etapa de aplicación del retardante hasta la cosecha. Las variables evaluadas fueron: crecimiento vegetativo; longitud de entrenudos; número de hojas por rama; cuajado de fruto; peso de fruto; calidad de fruto y producción total.

### **Experimento 2: Efecto de P-Ca en hormonas endógenas**

En la huerta referida en el experimento 1, en la primavera de 2003, se seleccionaron 20 árboles del cultivar ya descrito y se ordenaron estadísticamente en 2 grupos con un diseño completamente al azar y cuatro repeticiones. Un grupo de 10 árboles se identificó como testigo y el segundo fue asperjado el 8 de abril de 2003 con 250 mg/L de P-Ca mezclado con el dispersante anteriormente mencionado.

Para relacionar el efecto de P-Ca con los niveles de hormonas en el ápice de la rama y en semillas de fruto; se realizaron colectas de 50 ápices en cada muestra 0, 1, 2, 3, 4, 10, 17, 24, 31, 38, 45 y 52 días después del tratamiento. Las muestras de semillas fueron tomadas de frutos cuando estos alcanzaron 8 semanas de edad, fecha correspondiente a la inducción floral. Cada muestra

fue transferida inmediatamente a nitrógeno líquido tan pronto se desprendió de la planta. Las muestras fueron llevadas al laboratorio del Departamento de Horticultura donde fueron liofilizadas y pulverizadas previamente a su análisis hormonal.

**Giberelinas.** En cada ocasión se utilizó una muestra consistente en un gramo de peso seco; se colocó en un matraz erlenmeyer al cual se le agregaron 50 mL de metanol (80%). Las muestras obtenidas se conservaron durante 24 horas en congelación (-15 °C). Posteriormente, se filtraron en papel wathman 1 a temperatura de 24 °C. Esta actividad se repitió con el filtrado en dos ocasiones con igual cantidad de metanol (100 %) cada cuatro horas a la misma temperatura. Los tres filtrados integrados en un matraz bola de 250 mL fueron evaporados a temperatura de 50 °C para separar la muestra del metanol utilizando un equipo de evaporación rotativa con baño maría. Enseguida se procedió a la purificación de las muestras, a través de la separación de impurezas, empleando cápsulas Sep Pack C18 para separación rápida de hormonas a base de sílica gel. Lo anterior se realizó utilizando la técnica previamente reportada [12]. Enseguida, las muestras se sometieron a cromatografía de capa fina (CCF) utilizando sílica gel GF254, y como eluyente la mezcla de isopropanol-amoniaco-agua (10:1:1) (v:v:v) durante cuatro horas, a temperatura de 20 °C. Como referencia se utilizó giberelina A<sub>4/7</sub> la cual se localizó en los R<sub>f</sub> 0.5-0.7 con luz ultravioleta. De cada muestra, por los R<sub>f</sub>, las giberelinas fueron separadas y acondicionadas para su medición analítica [13]. Cada muestra purificada fué metilada con diazometano preparado *in situ* y el

contenido de giberelinas fué analizado al inyectarse 0.1 mL de la solución a un cromatógrafo líquido de alta resolución con detector de captura de electrones, modelo Finnigan TSQ 7000 equipado con nitrógeno como gas y una columna Ultrasep Es 100 RP-18 de 1 m de largo por 0.43 mm de diámetro interno y empacada con acetonitrilo: agua conteniendo 0.2 % de ácido acético en proporción 50:50 (v:v) con un flujo de 70  $\mu$ L/min. La giberelina A<sub>4/7</sub> fué utilizada como referencia analítica durante el programa de corridas por determinación cuantitativa de las giberelinas presentes en el tejido estudiado a través de la generación de la curva de calibración correspondiente, utilizando también 0.1 mL a concentraciones de 1, 10 y 100 ng de AG<sub>4/7</sub> diluidos en acetona-metanol (50:50) (v:v) [13]. Las muestras de CCF con mayor contenido de giberelinas fueron preparadas para identificar el tipo de giberelinas presentes, utilizando la técnica de cromatografía de gases (CG) con detector de ionización por flama y espectrometría de masas (EM). Un gramo de peso seco de la muestra referida fue disuelta en 0.1 mL de acetona (98 %)-metanol (98 %) en la proporción 50:50 (v:v) y metilado con diazometano. Una proporción del extracto metilado fue disuelto en 0.1 mL de piridina y tratado con 0.1 mL de trimetil clorosilano y hexametildisilazano. Las alícuotas fueron examinadas con un separador de membrana de silicón Pye 104 CLC acoplado a un espectrómetro de masas AEI MS30. En éste equipo se instalaron columnas de vidrio salinizadas (213 x 0.2 cm) con 2 % de Se-33, en 88-100 de gas chrom Q. La proporción de flujo fué de 25 mL/min y la temperatura de la columna fué programada entre 180 a 280 °C a 2 °C/min. La espectrometría de masas fue determinada a 24eV en una fuente de temperatura de 190 °C y una velocidad de búsqueda de 6.5 s por década de



masa. El espectro fue registrado por una computadora Dec Lin 8. La identificación fue conducida por comparación del Índice de Retención Kovats (KRI) de la muestra con la referencia, así como el patrón de fragmentación de los derivados sililatos con las muestras originales en el espectro de EM [12].

**Citocininas.** La extracción de citocininas se realizó con el procedimiento descrito para giberelinas. La purificación de cada muestra se obtuvo al pasarla a través de una columna HP3 de 13 cm de largo por 2.5 cm de diámetro interno y empacada con la resina de intercambio catiónico Dowex 50 WX8. Conservando la columna con la muestra a una temperatura de 6 °C, ésta fue eluida con etanol (98 %) – agua destilada (50:50) (v:v) y las citocininas recuperadas con 250 mL de hidróxido de amonio 3N. Ésta se evaporó a presión reducida de la misma manera mencionada anteriormente. Al extracto obtenido se le agregó 1 mL de acetona (98 %) – metanol (98 %) en la proporción de 50:50 (v:v) y se transfirió a tubos eppendorf para evaporar el solvente con N<sub>2</sub> y en baño maría a 50 °C hasta sequedad. Cada muestra se derivó agregándole 1 mL de trisilbis(trimetil-silil) trifluoracetamina) para luego inyectarse en el cromatografo líquido de alta resolución (CIAR). Como referencia de citocininas, se utilizó zeatina a concentraciones de 1, 10 y 100 ng diluidos en acetona-metanol. Las muestras con mayor concentración de citocininas fueron también analizadas para su identificación por cromatografía de gases (CG) y espectrometría de masas (EM) en las mismas condiciones que las giberelinas.

**Auxinas.** La extracción de auxinas se obtuvo con el procedimiento giberélico. Su purificación se realizó con la técnica de partición con cloroformo como solvente y cromatografía de capa fina reportada anteriormente [12]. Las muestras después de ser derivadas como ocurrió con citocininas, fueron analizadas con cromatografía líquida de alta resolución y cromatografía de gases y espectrometría de masas ya referida en la sección de giberelinas. Se utilizó ácido indol acético (AIA) como referencia de auxinas a concentraciones de 1, 10 y 100 ng como se indicó anteriormente.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen a la Fundación PRODUCE Coahuila el financiamiento otorgado para la realización de la presente investigación.

## **Referencias**

1. Ramírez, H. Apple growing in northeastern Mexico. *Acta Horticulturae*. **2000**. 565:139-140.
2. Basak, A.; Rademacher, W. Growth regulation of pome and stone fruits trees by use of Prohexadione – Ca. *Acta Horticulturae*. **2000**. 514: 41-50.
3. Bangerth, F. K. Can regulatory mechanism in fruit growth and development be elucidate the study of endogenous hormone concentration. *Acta Horticulturae*. **1997**. 463: 77-87.
4. Fallahi, E. Metabolism, action and use of BAS-125W in apples. *HortScience*. **1999**. 34: 1192-1193.

5. Greene, D. W. Reduces rates and Multiples sprays of paclobutrazol control growth and improbe fruit quality of Delicious apples, J. Amer. Soc. Sci. **1991**. 116:807-812.
6. Evans, J. R.; Ishida, C. A.; Regusci, C. L.; Rademacher, W. Mode of action, metabolism and uptake of BAS-125W, prohexadione-calcium. HortScience. **1997**. 324: 557-558.
7. Evans, L.; Evans, R. R.; Regusci, C. L.; Rademacher, W. Mode of action, metabolism and uptake of BAS-125W Prohexadione-calcium. HortScience **1999**. 34(7): 1200-1201.
8. Rademacher, W.; Kraus, M.; Hoepfner, P.; Evans, J. R.; Evans, R. R.; Prohexadione-Ca. A new biorregulator for the control of vegetative growth in Apple. Data Report APE/HF 19984296RAD, BASF Agricultural Center, 67114 Limburgerhof, Germany. **1998**.
9. Edgerton, L. J. Some effects of Paclobutrazol on growth and fruiting of apple, peach and cherry. Acta Horticulturae. **1986**. 179: 476-472.
10. Owens, L.; Stover, E. Vegetative growth and flowering of young apple trees in response to prohexadione-calcium. HortScience. **1999**. 34: 1194-1196.
11. Unrath, C. R. Prohexadione–Ca: A promising chemical for controlling vegetative growth of apples. HortScience. **1999**. 34(7): 1191-1200.
12. Ramírez, H.; Hoad, G. V.; Benavides, A.; Rangel, E. Gibberellins in apple seeds and the transport of [<sup>3</sup>H]-GA<sub>4</sub>. Revista de la Sociedad Química de México. **2001**. 45(2):47-50.
13. Stephan, M.; Bangerth, F.; Schneider, G. Transport and metabolism of the gibberellins A<sub>1</sub>, A<sub>3</sub> and A<sub>4</sub> after application to developing apple fruits

- of *Malus domestica* cv. Jonagold. VIII Symposium Plant Bioregulators. Ed. J. L. Guardiola. Acta Horticulturae. **1998**. 453:113-119.
14. Greene, D. W. The use of BAS 125W to control growth of apple trees. Proceedings PGRSA. **1996**. 24(1-2):59.
15. Costa, G.; Sabatini, E.; Spinelli, F.; Andreotti, C.; Spada, G.; Mazini, F. Prohexadione-Ca control vegetative growth and cropping performance in pear. Acta Horticulturae **2001**. 653: 43-48.
16. Rademacher, W. Chemical regulation of shoot growth in fruit trees. **2004**. 653: 9-15.
17. Yoder, K. S.; Miller, S. S.; Byers, R. E. Suppression of fireblight in apple shoots by prohexadione–calcium following experimental and natural inoculation. HortScience. **1999**. 34:1202-1204.
18. Rojas-Garcidueñas, M.; Ramírez R. Control hormonal del desarrollo de las plantas. Editorial Limusa. México, D.F. **1996**. 239 p.
19. Díaz M. D.; Fisiología de árboles frutales. AGT Editor S. A. México, D.F. **2002**. 38-40 p.

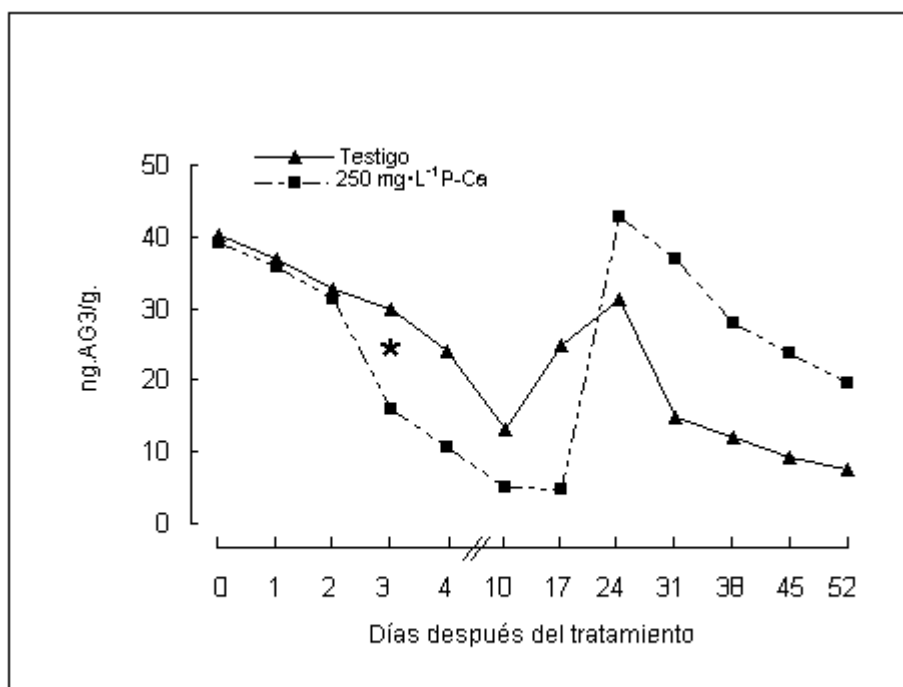


Figura 1. Efecto de prohexadiona de calcio sobre el contenido de giberelinas en ápices de manzano cv Royal Gala \*P≤0.05.

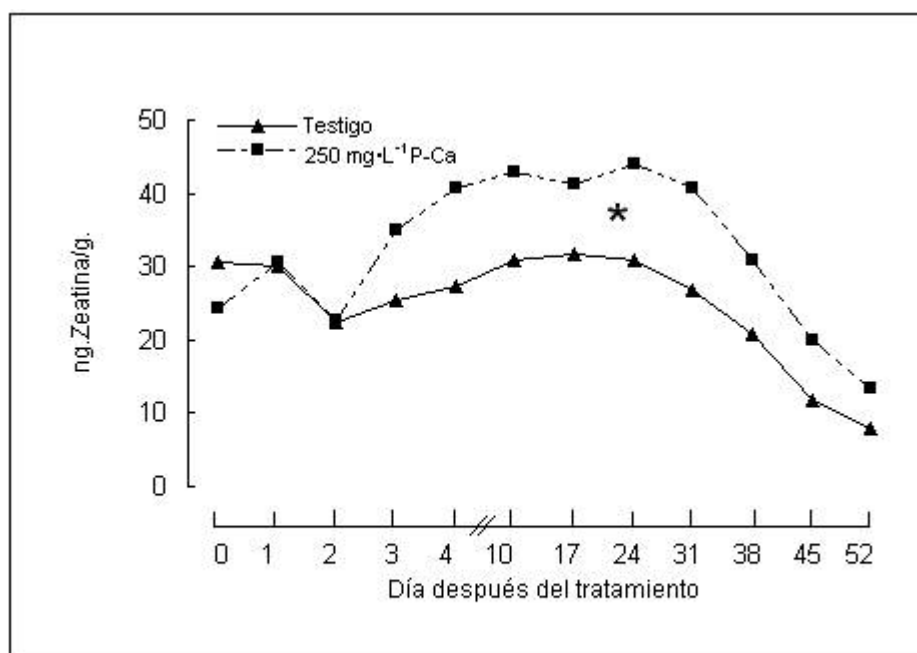


Figura 2. Efecto de prohexadiona de calcio sobre el contenido de citocininas en ápices de manzano cv Royal Gala \*P≤0.05.

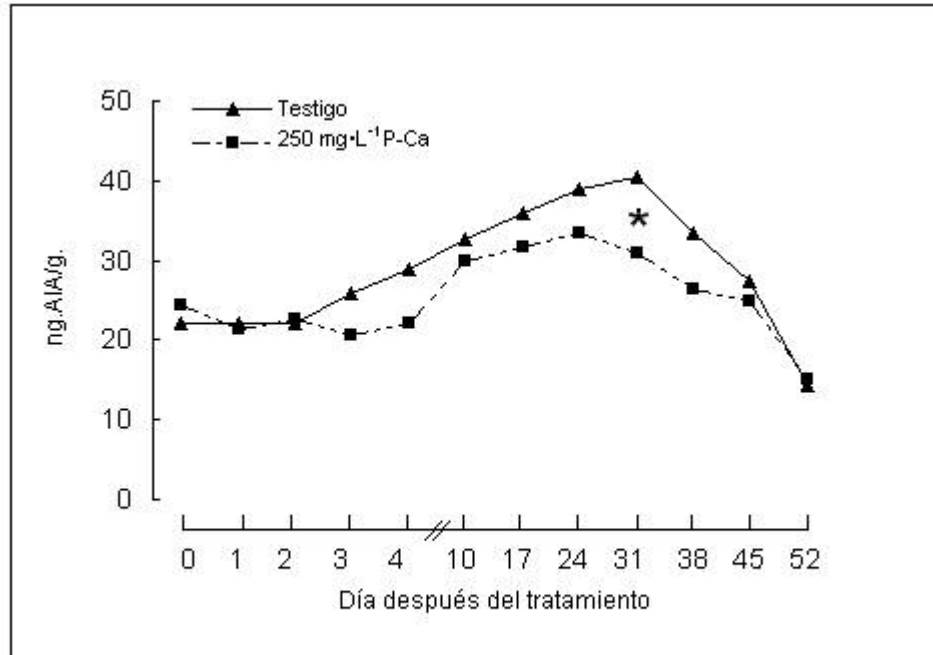


Figura 3. Efecto de prohexadiona de calcio sobre el contenido de auxinas en ápices de manzano cv Royal Gala \*P<0.05.

**Cuadro 1.** Efectos de Prohexadiona-Ca sobre parámetros vegetativos de manzano cv Royal Gala.

Tratamiento	Longitud de la rama (cm)	Longitud del entrenudo (mm)	Número de hojas por rama
Testigo	35.2 a <sup>z</sup>	27.0 a	12 a
P-Ca (mg·L)			
125	7.2 b	19.6 b	9 b
175	5.1 b	18.2 b	8 b
250	4.6 bc	14.5 c	9 b

<sup>z</sup> valores con la misma letra son iguales estadísticamente por columna de acuerdo a la prueba de Duncan P≤0.01.

Cada valor representa la media de 16 árboles.

**Cuadro 2.** Efectos de Prohexadiona-Ca sobre parámetros de fruto de manzano cv Royal Gala.

Tratamiento	Fruto <sup>y</sup>				
	Cuajado (%)	Peso (g)	Sólidos solubles totales (°Brix)	Firmeza (kg/cm <sup>2</sup> )	Producción total por árbol (kg) <sup>x</sup>
Testigo	23 b <sup>z</sup>	150	13.24 a	6.28 b	54.46 c
P-Ca (mg/L)					
125	29 a	147	10.46 b	8.16 a	61.02 b
175	34 a	145	9.98 b	7.66 a	63.02 b
250	40 a	146	9.66 b	8.04 a	69.70 ab

<sup>z</sup> Valores con la misma letra son iguales estadísticamente por columna de acuerdo a la prueba de Duncan P≤0.01.

<sup>y</sup> Cada valor representa la media de 50 frutos.

<sup>x</sup> Cada valor representa la media de 16 árboles.

**Cuadro 3.** Giberelinas, citocininas y auxinas presentes en ápices y semillas inmaduras de manzano cv Royal Gala. Identificadas por CGEM.

Hormonas	KRI <sup>a</sup>	iones principales e intensidad relativa (%)
Giberelinas		
GA <sub>1</sub>	2651	[506(100), 448(14), 377(15), 375(18)]
GA <sub>4</sub>	2488	[418(21), 403(2), 400(12), 386(25), 284(100)]
GA <sub>7</sub>	2416	[416(10), 193(12), 179(5), 155(13)]
GA <sub>9</sub>	2295	[330(5), 217(37), 183(19), 159(45)]
GA <sub>20</sub>	2468	[418(100), 403(17), 387(6), 375(82), 359(19)]
GA <sub>51</sub>	2507	[418(4), 403(3), 386(15), 371(3), 358(1)]
GA <sub>53</sub>	2813	[448(45), 251(29), 208(92), 193(22)]
Citocininas		
Zeatina	2174	[219(63), 184(25), 105(25)]
Auxinas		
Ácido Indol Acético	2017	[175(59), 130(29), 103(43), 77(38), 51(21)]

<sup>a</sup> Kovats retention index



## **CONCLUSIONES**

Se concluye que prohexadiona de calcio a concentraciones de 125, 175 y 250 mg/L aplicadas durante la primavera al cultivar de manzano Royal Gala reduce el crecimiento vegetativo y aumenta el cuajado de fruta y la producción por árbol notablemente. El P-Ca, produce frutos con mayor firmeza y menor contenido de sólidos solubles totales (°Brix).

La aplicación de Prohexadiona de Ca en la concentración de 250 mg/L reduce los niveles de giberelinas y auxinas; y aumenta las citocininas en meristemas apicales. La síntesis de giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, y A<sub>7</sub> son inhibidas por el retardante de crecimiento a la concentración referida.

## LITERATURA CITADA

- Bangerth, F. K. 1997. Can regulatory mechanism in fruit growth and development be elucidate the study of endogenous hormone concentration. *Acta Horticulturae*. 463: 77-87.
- Basak, A.; Rademacher, W. 2000. Growth regulation of pome and stone fruits trees by use of Prohexadione – Ca. *Acta Horticulturae*. 514: 41-50.
- Edgerton, L. J. 1986. Some effects of paclobutrazol on growth and fruiting of apple, peach and cherry. *Acta Horticulturae* 179: 476-472.
- Evans, J. R.; Ishida, C.A.; Regusci, C. L.; Rademacher, W. 1997. Mode of action, metabolism and uptake of BAS-125W, prohexadione-calcium. *HortScience* 324: 557-558.
- Evans, L.; Regusci, C. L. 1999. Mode of action, metabolism and uptake of BAS-125W prohexadione-calcium. *HortScience* 34(7): 1200-1201.
- Fallahi, E. 1999. Metabolism, action and use of BAS-125W in apples. *HortScience* 34(7): 1192-1193.
- Greene, D. W. 1991. Reduces rates and Multiples sprays of paclobutrazol control growth and improve fruit quality of Delicious apples, *J. Amer. Soc. Sci.* 116:807-812.
- Jackson, D. I. y Looney, N. E. 2003. Utilización de biorreguladores en fruticultura. pp. 119-120. En *Producción de frutas de climas templados y subtropicales*. D. I. Jackson y (eds). Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Jackson, D. I. y Palmer, J. 2003. Frutales de pepita. pp. 213-214. En *Producción de frutas de climas templados y subtropicales*. D. I. Jackson y N. E. Looney (eds). Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Owens, L.; Stover, E. 1999. Vegetative growth and flowering of young apple trees in response to prohexadione-calcium. *HortScience* 34(7): 1194-1196.
- Pilatti, R.A. 1997. *Cultivo Bajo Invernaderos*. pp. 7-33. Editorial Hemisferio Sur, S.A. Universidad Nacional del Litoral, Buenos Aires, Argentina.

- Quinlan, J. D.; Richardson, P. J. 1984. Effect of Paclobutrazol (PP333) on apple shoot Growth. *Acta Horticulturae* 146: 105-111.
- Rademacher, W. 1991. Inhibitors of gibberellins biosynthesis. Application in agriculture and horticulture. In: N. Takahashi, B.O. Phinney, and J. MacMillan (eds.) *Gibberellins*, Springer-Verlag, New York. pp. 296-310.
- Rademacher, W.; Kraus, M; Hoepfner, P.; Evans, J. R.; Evans, R. R.; 1998. Prohexadione-Ca. A new bioregulator for the control of vegetative growth in Apple. Data Report APE/HF 19984296RAD, BASF Agricultural Center, 67114 Limburgerhof, Germany.
- Ramirez H. 2000. Apple growing in northeastern Mexico. *Acta Horticulturae* 565: 139-140.
- Ramirez, H.; A. Benavides. 2003. Horticultural science and industry in Mexico – an overview. *Chronica Horticulturae*. ISHS. Vol. 43 (3). p. 23
- 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, México*. 9(2):279-289.
- Ramírez, H.; J. Torres; A. Benavides; J. Hernández y V. Robledo. 2004. Fruit bud initiation in apple cv Red Delicious linked to gibberellins and cytokinins. *Rev. de la Soc. Quím. de México*. 48: 7-10.
- Rojas G., M. y H. Ramírez R. 1993. Control hormonal del desarrollo de las plantas. Editorial Limusa. México, D.F. pp 235.
- Steffens, G. L.; Lin, J. L. T.; Stafford, A. E.; Metzger, J. D.; Hazebroek J. P. 1992. Gibberellins content of immature apple seeds from paclobutrazol treated trees over three seasons. *J. Plant Growth Regulators*. 11: 165-170.
- Unrath, C. R. 1999. Prohexadione–Ca: A promising chemical for controlling vegetative growth of apples. *HortScience*. 34(7): 1191-1200.
- Yáñez, R. J. N. 2002. Nutrición y regulación del crecimiento en hortalizas y frutales. Watts. Saltillo, Coahuila. pp. 40-42.