

## RESPUESTA METABÓLICA Y BROTAÇÃO DE YEMAS DE MANZANO POR LA APLICACIÓN DE PROMOTORES DE BROTAÇÃO

### METABOLIC AND BURSTING RESPONSES OF APPLE BUDS TO BUDBREAKING PROMOTERS

Jesús Llamas-Llamas, Elizabeth Carvajal-Millán, Antonio Orozco-Avitia, Agustín Rascón-Chu, Alejandro Romo-Chacón, Víctor M. Guerrero-Prieto, Víctor A. González-Hernández<sup>2</sup> y Alfonso A. Gardea Béjar<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo-Unidad Cuauhtémoc. Apartado Postal 781. Cuauhtémoc, Chihuahua, México. Tel y Fax: 01 (625) 581-2921. Correo electrónico: gardea@cascabel.ciad.mx <sup>2</sup>Instituto de Recursos Genéticos y Productividad, Colegio de Posgraduados. C.P. 56230. Montecillos, Estado de México. Tel. 01 (595) 952-0200 Ext. 1584. Fax: 01 (595) 952-0262. Correo electrónico: vagh@colpos.mx.

\* Autor responsable

#### RESUMEN

La respuesta fenológica del manzano (*Malus domestica* Borkh) a la aplicación de promotores de brotación (PB), ha sido ampliamente documentada. Sin embargo, existe escasa información sobre los cambios metabólicos inducidos en las yemas por la aplicación de PB. En este estudio se evaluó la respuesta metabólica y brotación de yemas en brindillas coronadas del cultivar Golden Delicious, a la aplicación de cianamida hidrogenada (CNH) y tidiázurón (TDZ), 45 días antes de brotación normal. La actividad metabólica (q) y la velocidad de respiración (RCO<sub>2</sub>) de las yemas apicales se determinaron en laboratorio mediante calorimetría isotérmica, mientras que la respuesta de las yemas laterales y apicales se estimó registrando la brotación en campo. En laboratorio, a los 15 días de la aplicación de 10, 15 ó 20 mL L<sup>-1</sup> de CNH, la q de las yemas tratadas superó en 19.6 % a las yemas del testigo, y con la dosis de 15 mL L<sup>-1</sup> se aumentó en 16.6 % la RCO<sub>2</sub> de las yemas. En campo, a los 30 días de aplicada la CNH a 20 mL L<sup>-1</sup>, la brotación de yemas apicales y laterales fue de 96 y 67 %, respectivamente, lo que representó incrementos de 2.7 y 2.2 respecto al testigo. Con TDZ a la dosis de 0.7 mL L<sup>-1</sup>, en laboratorio hubo un pequeño pero significativo aumento de 5.6 % en la q de las yemas apicales, y la RCO<sub>2</sub> no se modificó significativamente, en comparación con el testigo. Pero en campo, a los 30 días de aplicado, el TDZ promovió significativamente la brotación tanto de las yemas apicales como de las laterales, al alcanzar valores de 96 % y de 67 %, respectivamente, que superaron al testigo por 23 y 31 %.

**Palabras clave:** *Malus domestica*, calorimetría, actividad metabólica, velocidad de respiración.

#### SUMMARY

Apple (*Malus domestica*, Borkh) phenological responses to bud-breaking promoters (BBP) application have been widely documented. Nevertheless, there is scarce information on the metabolic activity induced by BBP. In this work, the metabolic and budbreak responses of cv. Golden Delicious short flower limbs to hydrogen cyanamide (HCN) and thidiazuron (TDZ), applied 45 days before normal budbreak, were characterized. In the laboratory the metabolic activity (q) and respiration rate (RCO<sub>2</sub>) of apical flower buds were measured by isothermal calorimetry, while under field conditions both lateral and apical flower buds responses were estimated by monitoring budbreak. In lab conditions, the application of HCN at 10, 15 and 20 mL L<sup>-1</sup> increased q of treated buds by 19.6 %, 15 days after application, as compared to controls, and with 15 mL L<sup>-1</sup> the RCO<sub>2</sub> of apical buds was increased by 16.6 %. Under field conditions and 30 days after application, HCN at 20 mL L<sup>-1</sup> produced 96 % and 67 % of apical and lateral budbreak, respectively; these values represented gains of 2.7

and 2.2 times over controls. With TDZ at 0.7 mL L<sup>-1</sup> there was a small but significant increase of 5.6 % in q, 15 days after application, but no change in RCO<sub>2</sub>. However, 30 days after application under field conditions, TDZ at 0.7 mL L<sup>-1</sup> promoted both apical and lateral budbreak, since they reached values of 96 and 67 % respectively, which were 23 and 31 % higher than controls.

**Index words:** *Malus domestica*, calorimetry, metabolic activity, respiration rate.

#### INTRODUCCIÓN

La latencia en frutales caducifolios es un mecanismo para sobrevivir ante condiciones adversas y sincronizar su desarrollo con las variaciones ambientales (Kobayashi, 1987). El potencial productivo de las especies cultivadas depende de la sincronización entre los eventos fenológicos que caracterizan su ciclo anual de desarrollo y los cambios ambientales que prevalezcan, principalmente los de temperatura.

México cuenta con un potencial importante para el cultivo comercial del manzano (*Malus domestica* Borkh), aunque restringido por el problema de adaptación de muchos cultivares (Luis-Aguilar, 1977). Todas las zonas productoras del país se localizan en regiones con inviernos relativamente cálidos e irregulares, donde los requerimientos de frío de los principales cultivares no llegan a ser satisfechos, con los consecuentes desajustes fisiológicos que restringen considerablemente su productividad. La inadaptabilidad del cultivo se refleja en una brotación escasa, tardía e irregular, una mayor sensibilidad al ataque de plagas y enfermedades, y una baja producción

Al respecto, los periodos invernales 1998-1999 y 1999-2000 fueron inusualmente cálidos en el Altiplano Chihuahuense, con fuertes variaciones térmicas y con deficiencias marcadas de frío invernal. Ante estas condiciones se hace necesario manipular el periodo de latencia mediante el uso de agentes promotores de brotación (PB), que incrementen

y uniformen la floración. El éxito de esta práctica depende de la interacción de factores como: 1) el estado fisiológico en que se encuentre la yema (*para-, endo- o ecolatencia*); 2) la fecha y dosis de aplicación; y 3) la temperatura ambiental que prevalezca durante y después de la aplicación.

Las investigaciones sobre el uso de PB en frutales caducifolios, han generado recomendaciones muy diferentes sobre la época y dosis de aplicación. Por ejemplo, mientras que Gil-Salaya (1997) recomienda su aplicación al inicio de la fase de yema hinchada, Steffens y Stutte (1989) reportan que el tiazurón [N-fenil-N'-1,2,3,-thidiazol-5-ilurea] también llamado TDZ, aplicado antes de las bajas temperaturas invernales redujo el requerimiento de frío de tres cultivares de manzana. Por su parte, Reyes<sup>(1)</sup> (comunicación personal) señala que la aplicación de TDZ antes de la defoliación natural, seguida de inducción de la senescencia foliar una semana después, hace que disminuyan considerablemente los requerimientos de frío de Golden Delicious. Acerca del mecanismo de acción, Wang *et al.* (1991a) afirman que la brotación de yemas de manzano inducida por TDZ está estrechamente relacionada con un incremento en la actividad de la enzima superóxido dismutasa, en respuesta a la acumulación de radicales libres.

En cuanto a la cianamida hidrogenada [H<sub>2</sub>CN<sub>2</sub> (CNH)], Erez (1987) considera que en frutales de hueso no debe aplicarse antes de cuatro semanas de la fase de yema hinchada, porque puede causar daños graves a las yemas florales y brotes jóvenes, debido a la interacción entre condiciones frías y fitotoxicidad. Por el contrario, Dozier *et al.* (1990) recomiendan su aplicación seis semanas después de la brotación normal porque en esa etapa indujo efectivamente la brotación y redujo la muerte regresiva de los brotes en 17 cultivares de durazno y nectarina (*Prunus persica* L. Batsch.) con deficiencias de frío. No obstante, la mayoría de los investigadores consideran que la mejor época de aplicación de la CNH es antes de la brotación normal. La cianamida provoca aumentos en la actividad de las peroxidases, así como una disminución en la actividad de catalasa (Amberger, 1984; Nir *et al.*, 1984).

Tal diversidad de resultados sugiere que hay múltiples componentes en la latencia de yemas, ya que éstas pueden responder de manera diferente a la aplicación de PB; por ello es difícil obtener los mismos resultados, aun cuando las técnicas de aplicación sean muy similares. Lo anterior se atribuye principalmente a que la respuesta de las yemas se evalúa por métodos convencionales (cambios fenológicos), sin tener en cuenta su estado fisiológico. La calorimetría isotérmica permite obtener información precisa y

oportuna sobre la producción de calor metabólico de las yemas, como indicador efectivo de su actividad fisiológica (Criddle *et al.*, 1991; Gardea *et al.*, 2000).

Para probar la efectividad de la CNH y el TDZ en la promoción de la brotación en manzano, se realizó un estudio durante el invierno 2000-2001 en Cuauhtémoc, Chihuahua, con el objeto de evaluar en laboratorio, mediante calorimetría isotérmica, la respuesta metabólica de yemas florales apicales; y en campo, la respuesta fenológica de yemas florales apicales y laterales de manzano Golden Delicious a la aplicación de TDZ y CNH, 45 días antes de la brotación normal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetativo.** La respuesta metabólica de yemas apicales de brindillas coronadas de manzano a la aplicación de dos PB, se determinó en laboratorio (temperatura constante de 25 °C ±4 y fotoperiodo de 16 horas) mediante calorimetría isotérmica, mientras que en campo se registró la brotación de las yemas de brindillas, tanto de posición lateral como apical. El material vegetativo se obtuvo de un huerto comercial del cultivar Golden Delicious/EM9 de 10 años de edad. De las hileras centrales se seleccionaron 70 árboles de apariencia sana y con vigor uniforme. Para el estudio de laboratorio, se colectaron brindillas de 8 a 10 cm de longitud, diámetro similar y con un promedio de cinco yemas laterales bien formadas. Para el trabajo de campo se marcaron brindillas similares a las descritas anteriormente y se dejaron intactas en los árboles. En los dos lotes experimentales, la aplicación de PB se realizó el 24 de febrero, aproximadamente 45 días antes de la fecha regular de brotación.

**Manejo de las muestras.** Para el estudio de laboratorio, las brindillas se colectaron por la mañana entre las 9 y 10 horas, se trasladaron al laboratorio en una hielera, protegidas con papel absorbente húmedo, a una temperatura de 7 °C. Una vez en el laboratorio, se seleccionaron al azar 20 brindillas, de las cuales se obtuvieron 20 yemas apicales para determinar su actividad metabólica antes de la aplicación de PB. Las muestras restantes se separaron en ocho grupos de 20 brindillas cada uno, asignando al azar cuatro grupos para cada promotor. Enseguida, se lavaron con agua destilada para quitarles el polvo, y el exceso de humedad se eliminó con papel absorbente; luego se colocaron sobre una superficie seca y con atomizadores de 0.5 L se aplicaron los siguientes tratamientos con CNH: a) Testigo (agua desionizada), b) 10, c) 15 y d) 20 mL L<sup>-1</sup>; con TDZ los tratamientos fueron: a) Testigo (agua desionizada), b) 0.3, c) 0.5 y d) 0.7 mL L<sup>-1</sup>. Las brindillas tratadas se colocaron sobre papel estrasa y se dejaron secar al aire;

<sup>(1)</sup> Alfonso Reyes López. UAA Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah. 25315.

luego se colocaron en recipientes de vidrio con agua y se trasladaron a una cámara de crecimiento (GC8-IH, Chagrin Falls, Ohio, E.U.A.), donde se mantuvieron a temperatura constante de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4$  y fotoperiodo de 16 h durante 15 días. Cada tres días se cambió el agua de los recipientes y se renovó el corte basal. La medición de la actividad metabólica de las yemas de cada tratamiento se llevó a cabo antes de la aplicación (0 días) y a los 3, 6, 9, 12 y 15 días después.

En campo se aplicaron los mismos tratamientos sobre brindillas marcadas (cuatro brindillas por árbol, con diez árboles por tratamiento), en la misma fecha en que se colectaron las brindillas para el laboratorio. El monitoreo de la brotación de yemas laterales y apicales fue realizado a los 0, 15 y 30 días después de la aplicación.

**Mediciones calorimétricas y cuantificación de brotación.** Las mediciones calorimétricas se realizaron en un calorímetro de barrido diferencial modelo CSC 4100 (Spanish Fork, Utah, E.U.A.), el cual posee cuatro celdas metálicas herméticas de  $1\text{ cm}^3$ , sensibilidad de  $\pm 1\mu\text{W}$  y rango de barrido de  $-30$  a  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La cuarta celda siempre se mantuvo vacía durante las mediciones, como referencia. Para prevenir la condensación de humedad dentro del instrumento, se utilizó un flujo constante de  $\text{N}_2$  de  $1.75\text{ kg cm}^{-2}$ . La temperatura en la cámara del calorímetro se mantuvo constante a  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  con un baño circulante-refrigerante (Polyscience. Niles, Illinois, E.U.A.). En cada fecha de muestreo se colectaron al azar 20 yemas de cada tratamiento, de las cuales en cada celda se colocaron de 70 a 80 mg de peso fresco y se corrieron 6 repeticiones por tratamiento. La actividad metabólica de las yemas se determinó mediante calorimetría isotérmica a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 2500 s y las variables evaluadas fueron actividad metabólica (q) y velocidad de respiración ( $\text{RCO}_2$ ), de acuerdo con la metodología descrita por Criddle *et al.* (1991). Los datos se ajustaron conforme a las líneas base y se recalcularon por unidad de peso seco (ps). Los porcentajes de brotación registrados en campo, en las tres fechas de observación, se normalizaron mediante su transformación al arcoseno, previo al análisis estadístico.

**Análisis estadísticos.** Los datos de laboratorio y de campo se analizaron estadísticamente por un análisis de varianza con diseño completamente al azar y arreglo factorial para dosis y días después de la aplicación. Las respuestas a los tratamientos con respecto al número de días transcurridos después de la aplicación, también se ajustaron y compararon mediante regresión lineal para cada variable y cada PB. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando la versión 6.08 de SAS (SAS Institute Inc., 1992).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Mediciones calorimétricas

**Actividad metabólica (q).** El análisis estadístico indicó comportamientos diferentes de los dos promotores de la brotación. La respuesta a la CNH dependió directamente de la interacción entre la dosis y el tiempo transcurrido después de la aplicación ( $P \leq 0.001$ ); en cambio, en el caso de TDZ, no hubo interacción entre ambos factores, aunque sus efectos principales sí fueron significativos.

Antes de aplicar los tratamientos (día 0), las yemas apicales de las brindillas registraron un valor promedio de q de  $4.4\ \mu\text{W mg}^{-1}\text{ ps}$  (Figuras 1 y 2), que es muy similar al reportado por Gardea *et al.* (2000) para yemas vegetativas de Golden Delicious, después de haber recibido 1200 horas-frío, y ligeramente inferiores al registrado por Carvajal-Millán *et al.* (2000) en yemas florales ecolatentes del mismo cultivar. Se puede inferir entonces que al iniciar el estudio las yemas se encontraban en su fase final de endolatenia y fisiológicamente sensibles a la aplicación de PB. Similarmente, Faust *et al.* (1997) observaron que entre la fase final de endolatenia y el inicio de ecolatenia, las yemas se encuentran sensibles a la aplicación de citocininas y otros productos químicos que rompen la latencia, de manera que si se exponen a temperaturas suficientemente altas, el crecimiento se reanuda.

En promedio de los diversos muestreos realizados a lo largo de la evaluación, la concentración de tidiazurón que rindió la mayor actividad metabólica fue la de  $0.7\text{ mL L}^{-1}$ , al superar ( $P \leq 0.05$ ) al testigo en 5.6 % (Cuadro 1). En cuanto a la velocidad de respuesta, considerada en promedio de todas las concentraciones, se detectó que a los tres días ya había un incremento significativo en la actividad metabólica de las yemas, y que la generación de calor del metabolismo a los 15 días era superior en 27.7 % a la inicial, con un valor de  $5.58\ \mu\text{W mg}^{-1}\text{ ps}$ . Estos resultados concuerdan con la mayoría de las recomendaciones comerciales sobre la dosis óptima de TDZ para manzano ( $0.7\text{ mL L}^{-1}$ ). Además, los resultados evidencian la rapidez que esta técnica calorimétrica ofrece para obtener información precisa y pronta acerca de los cambios metabólicos de las yemas inducidos por la aplicación de estos promotores.

El efecto de CNH se caracterizó por una interacción entre la concentración utilizada y el tiempo transcurrido después de la aplicación. Así, desde el tercer día de haberse aplicado, las tres concentraciones de CNH indujeron incrementos significativos ( $P \leq 0.05$ ) en el valor de q en las yemas, en relación con el testigo, efecto que se acentuó en los días subsiguientes (Figura 1), aunque sin diferencias

significativas entre las tres concentraciones de CNH, de acuerdo con los errores estándares. Los pequeños valores de estos errores en todos los tratamientos, excepto en el testigo, evidencian el efecto de compactación en la respuesta de las yemas, misma que luego se manifiesta en un periodo de brotación más corto, característico de las aplicaciones de CNH. En promedio de las tres dosis de CNH, la q de las yemas se incrementó en 2.2  $\mu\text{W mg}^{-1}$  ps a los 15 días de la

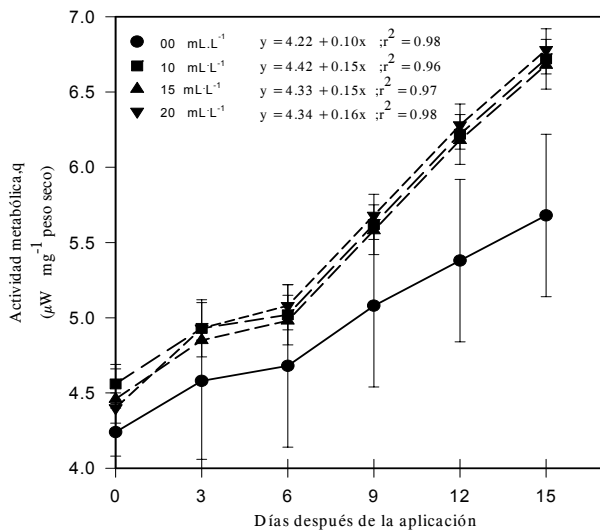


Figura 1. Respuesta de yemas apicales de brindillas coronadas de manzanos Golden Delicious a la aplicación de cuatro dosis de cianamida hidrogenada expresada como producción de calor metabólico. Las barras verticales corresponden a las desviaciones estándar.

aplicación, mientras que en el testigo el incremento fue solamente de 1.4  $\mu\text{W mg}^{-1}$  ps, lo que equivale a una ganancia relativa de 57 % por efecto de la cianamida. A los quince días de la aplicación, el valor medio de q de las yemas tratadas (6.7  $\mu\text{W mg}^{-1}$  ps) con esas tres concentraciones de CNH, corresponde a la actividad metabólica de yemas activas en estado de ‘punta plateada’, que es muy parecido al reportado por Carvajal-Millán *et al.* (2000) para el mismo cultivar. Las respectivas ecuaciones de regresión muestran un aumento lineal de q con el tiempo, en los cuatro tratamientos (Figura 1).

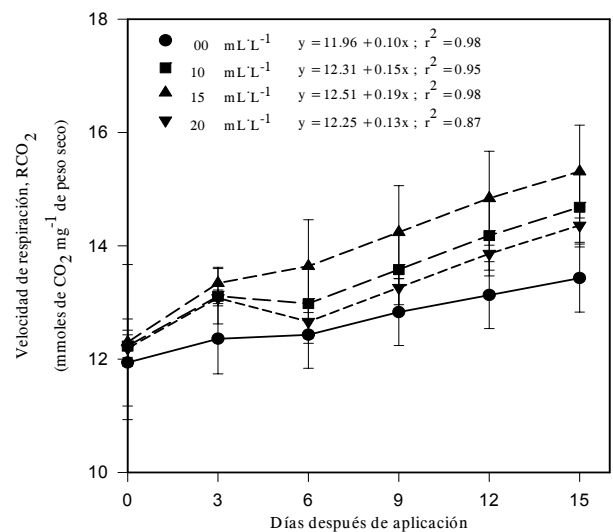


Figura 2. Efecto de cuatro dosis de cianamida hidrogenada en la velocidad de respiración de yemas apicales de brindillas coronadas de manzanos Golden Delicious. Las barras verticales corresponden a las desviaciones estándar.

Cuadro 1. Actividad metabólica y velocidad de respiración de yemas apicales de manzano Golden Delicious mantenidas a condiciones constantes de 25 °C ± 4 y 16 horas de fotoperiodo después de la aplicación de tiazurón (TDZ).

| Factor                              | Actividad metabólica, q<br>( $\mu\text{W mg ps}$ ) | Velocidad de respiración, RCO <sub>2</sub><br>(mmoles CO <sub>2</sub> mg <sup>-1</sup> ps) |
|-------------------------------------|--|--|
| Concentración (mL L <sup>-1</sup> ) |  |  |
| 0                                   | 4.79 a   | 13.29 ns   |
| 0.3                                 | 4.92 ab  | 13.09  |
| 0.5                                 | 4.94 ab  | 13.47  |
| 0.7                                 | 5.06 b   | 13.59  |
| Tiempo (días)                       |  |  |
| 0                                   | 4.37 a   | 12.20 a  |
| 3                                   | 4.75 b   | 13.25 b  |
| 6                                   | 4.85 bc  | 13.23 b  |
| 9                                   | 4.95 bc  | 13.40 b  |
| 12                                  | 5.07 bc  | 13.79 bc   |
| 15                                  | 5.58 c   | 14.29 c  |

Dentro de las columnas, las medias seguidas por letras distintas son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

En estudios realizados con *Malus sylvestris* por Fuchigami y Nee (1987), se demostró que la respuesta de las yemas a la aplicación de CNH puede ocurrir durante todo el periodo de latencia, pero la dosis apropiada depende del estado fisiológico de la yema, ya que su aplicación al final de la fase endolante promueve la brotación, y además se requiere una concentración cada vez menor conforme la yema avanza hacia la fase de transición entre endo- y ecolatencia; en cambio, si se aplica al final de la etapa ecolatente, no sólo es ineficaz en promover la brotación, sino que puede retrasarla e incluso causar fitotoxicidad. En vid (*Vitis vinifera* L.) cv. Thompson Seedless, Williams y Smith (1984) también encontraron que cuando la CNH se aplica dos semanas antes de brotación normal, ésta se retrasa en 50 % con relación al testigo.

**Velocidad de respiración (RCO<sub>2</sub>).** Antes de la aplicación de los PB, la RCO<sub>2</sub> de las yemas apicales de las brindillas registró un valor medio de 12 mmoles de CO<sub>2</sub> mg<sup>-1</sup> ps (Figura 2 y Cuadro 1), muy cercano a la intensidad respiratoria promedio (13 mmoles de CO<sub>2</sub> mg<sup>-1</sup> ps) reportada por Gardea *et al.* (2000) para yemas vegetativas ecolatentes de Golden Delicious. Esto sugiere que las yemas recién colectadas probablemente se encontraban en la fase de transición endo-ecolatencia.

El tidiazurón tuvo un efecto pequeño y no significativo en la velocidad de respiración, de tal forma que el valor promedio de RCO<sub>2</sub> de las yemas a través de los muestreos, fue cercano a 13 mmoles CO<sub>2</sub> mg<sup>-1</sup> ps. En cambio, el aumento de esta variable en función del tiempo transcurrido en promedio de todas las dosis, presentó un incremento significativo ( $P \leq 0.05$ ) de 2 mmoles CO<sub>2</sub> mg<sup>-1</sup> ps del día 0 al 15, aumento que no es atribuible al TDZ sino al avance fenológico y de actividad de las yemas.

La respuesta respiratoria inducida por la aplicación de CNH estuvo determinada por la interacción entre la dosis aplicada y el tiempo posterior a la aplicación, al igual que la respuesta en q. Así, con respecto al testigo, sólo las dosis de 10 y 15 mL L<sup>-1</sup> incrementaron significativamente ( $P \leq 0.05$ ) la tasa respiratoria, en las cuales se registró un aumento promedio cercano a 2 moles de CO<sub>2</sub> mg<sup>-1</sup> ps (Figura 2). Dado que no existieron diferencias estadísticas entre las concentraciones de 10 y 15 mL L<sup>-1</sup>, la primera resulta más recomendable por el menor costo implícito.

Los resultados muestran que la CNH tiene más efecto que el TDZ en la tasa respiratoria y en la actividad metabólica de las yemas apicales de las brindillas de manzano. Al respecto, las diferencias en magnitud de efectos fisiológicos entre ambos promotores, probablemente se deba a que estos PB afectan a diversos sustratos y rutas respiratorias que coexisten en los tejidos vegetales (Amthor, 1989), lo cual se refleja en diferencias en energía metabólica detectable por calorimetría, como lo han sugerido otros investigadores (Wang *et al.*, 1985; Young, 1990).

#### Brotación de yemas laterales y apicales en brindillas coronadas

Tanto el TDZ como la CNH causaron incrementos significativos en la brotación de yemas laterales y apicales en brindillas coronadas de Golden Delicious registrada en condiciones de campo, a los 15 y 30 días después de su aplicación, aunque el grado de respuesta varió entre los dos productos.

Con tidiazurón las yemas apicales y laterales de las brindillas respondieron de manera diferente a las concen-

traciones y tiempo transcurrido después de la aplicación. En las apicales estos dos factores interactuaron significativamente (Cuadro 2), ya que a los 15 días después de aplicados la brotación fue notoriamente mayor a medida que aumentó la concentración de TDZ, mientras que a los 30 días las diferencias entre dosis de TDZ fue menor. A los 30 días la brotación de yemas apicales inducida por TDZ osciló entre el 66 y 69 %, para superar en 22 a 25 % al testigo sin aplicación, respuesta que puede considerarse relativamente baja porque estas yemas son las que principalmente diferencian flores.

Cuadro 2. Brotación de yemas apicales de brindillas coronadas del cv. Golden Delicious, en respuesta a la aplicación de tidiazurón.

| Concentración<br>(mL L <sup>-1</sup> ) | Brotación (%)                 |      |
|--|-------------------------------|------|
|  | Días después de la aplicación |      |
|  | 15                            | 30   |
| 0                                      | 0.6                           | 43.9 |
| 0.3                                    | 1.4                           | 66.6 |
| 0.5                                    | 9.5                           | 68.1 |
| 0.7                                    | 35.7                          | 69.2 |

Interacción significativa ( $P \leq 0.0001$ ) entre concentración y días después de aplicación. Error estándar para la comparación entre dos medias, 0.3 %.

En el caso de las yemas laterales estos dos factores actuaron de manera independiente (sin interacción) y sus efectos principales fueron significativos. Con el factor TDZ se registró un incremento significativo en la brotación de las laterales a medida que la concentración aumentó, para alcanzar la mayor brotación promedio, en promedio de las dos evaluaciones a los 15 y 30 días, de 48 % con la concentración de 0.7 mL L<sup>-1</sup> (Figura 3a); con el factor tiempo después de la aplicación, a los 15 días se encontró que sólo 6 % de las yemas, tanto tratadas como testigos, habían brotado, mientras que a los 30 días la brotación era 10 veces mayor (Figura 3b).

La escasa respuesta observada en laboratorio con calorimetría con respecto a la brotación obtenida en campo, sugiere que el TDZ pudo haber modificado el metabolismo de las yemas mediante la activación de sistemas que no inciden directamente en la generación de q o en la producción de CO<sub>2</sub>, tales como la producción de poder reductor y la actividad de los sistemas antioxidantes, como proponen Wang *et al.* (1991a, 1991b). Según Westwood (1978), cuando se induce el rompimiento de la latencia de manera natural por la acumulación de frío invernal, la respiración de las yemas sí se incrementa. Debe considerarse que la posición de las yemas en las brindillas influye en la respuesta a las aplicaciones de TDZ, puesto que las yemas de posición apical presentaron una respuesta menos vigorosa que las yemas laterales; según Wang *et al.* (1991b), las yemas laterales responden a estas aplicaciones debido a que aumenta la actividad de enzimas relacionadas con la síntesis de ATP y la eliminación de radicales libres.

Con la aplicación de cianamida hidrogenada, aunque nuevamente hubo interacción entre los dos factores considerados, tanto en las yemas laterales como en las apicales, en ambos tipos de yema la máxima brotación se logró con la dosis de 20 mL L<sup>-1</sup>, tanto a los 15 como a los 30 días después de la aplicación, superando en 119 % la brotación del testigo a los 30 dda. Otros investigadores concuerdan en señalar a CNH como un eficiente promotor de la brotación, cuando se aplica en el momento y la concentración adecuados.

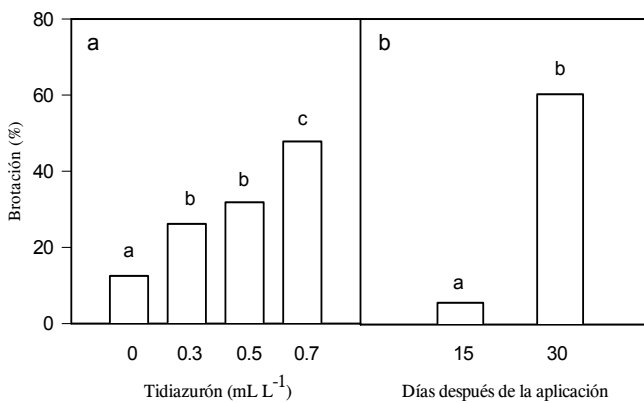


Figura 3. Brotación en campo de yemas laterales de brindillas coronadas de manzanos Golden Delicious tratados con cuatro concentraciones de tidiázurón (a) y respuesta promedio de las cuatro concentraciones en la brotación a los quince y treinta días después de la aplicación (b). Separación de medias de acuerdo a Tukey (0.05).

Estos resultados claramente muestran la posibilidad de mejorar significativamente la brotación de yemas apicales y laterales, en árboles de manzano que no hayan completado sus requerimientos de frío, si la aplicación de estos dos PB se hace en forma oportuna.

Finalmente, al analizar la relación entre los resultados de campo y los de laboratorio, se hace evidente que en brindillas intactas -unidas al árbol- el inicio de la brotación en campo coincide con la fecha en que ocurre la máxima actividad metabólica registrada mediante calorimetría en laboratorio en las yemas de todos los tratamientos (Figura 1). Es decir, que de acuerdo con la q o RCO<sub>2</sub> obtenidas en laboratorio con brindillas y yemas separadas, se podría predecir el nivel de brotación en campo a los 15 ó 30 días. También es claro que la medición de calor metabólico en brindillas separadas del árbol, permite detectar los tratamientos que más estimulan la actividad metabólica de las

yemas y el grado en que lo hacen. En este caso, aunque los resultados obtenidos en laboratorio no siempre rindieron diferencias significativas entre tratamientos, los resultados correspondieron plenamente con los que promovieron la mayor brotación en campo. Lo anterior confirma la utilidad de esta técnica calorimétrica para conocer el estado fisiológico de las yemas en un momento determinado, antes de aplicar los PB y para evaluar la respuesta a éstos; sobre todo porque se pueden medir los cambios metabólicos en los tejidos de las yemas, inducidos ya sea por condiciones ambientales o por agentes que rompen el letargo.

Cuadro 3. Efecto de la aplicación de cianamida hidrogenada en la brotación de yemas laterales y apicales de brindillas coronadas del cv. Golden Delicious.

| Concentración (mL L <sup>-1</sup> ) | Brotación de yemas (%) |                     |
|-------------------------------------|------------------------|---------------------|
|                                     | 15 dda <sup>‡</sup>    | 30 dda <sup>‡</sup> |
|                                     | Laterales              |                     |
| 0                                   | 0.4                    | 2.5                 |
| 10                                  | 2.5                    | 17.9                |
| 15                                  | 8.6                    | 62.1                |
| 20                                  | 14.3                   | 67.2                |
|                                     | Apicales               |                     |
| 0                                   | 0.6                    | 43.9                |
| 10                                  | 2.5                    | 80.9                |
| 15                                  | 5.3                    | 86.8                |
| 20                                  | 19.1                   | 96.2                |

<sup>‡</sup>dda=días después de la aplicación. Interacción significativa entre la concentración de cianamida hidrogenada y los días transcurridos después de la aplicación en yemas laterales (P ≤ 0.001; error estándar para la diferencia entre dos medias, 0.4 %) y apicales (P ≤ 0.003; error estándar, 0.4 %).

### CONCLUSIONES

En brindillas separadas del árbol y mantenidas a temperatura constante (25 °C ± 4) en laboratorio, la aplicación de cianamida hidrogenada a 10, 15 ó 20 mL L<sup>-1</sup>, realizada 45 días antes de la fecha regular de brotación, incrementó significativamente la actividad metabólica de las yemas apicales del manzano cv. Golden Delicious, con respecto al testigo, dos semanas después de la aplicación. Además tendió a uniformar la respuesta metabólica en relación con el testigo. La concentración de 15 mL L<sup>-1</sup> de CNH incrementó significativamente la tasa respiratoria de dichas yemas con respecto al testigo. El tidiázurón a 0.7 mL L<sup>-1</sup> produjo la mayor respuesta en actividad metabólica (P ≤ 0.05), aunque ninguna de las tres concentraciones usadas (0.3, 0.5 y 0.7 mL L<sup>-1</sup>) impactó a la velocidad de respiración de las yemas apicales en las brindillas.

En campo, tanto el tidiázurón como la cianamida, en las tres concentraciones utilizadas, indujeron la brotación de yemas laterales y apicales, desde los 15 días después de su aplicación. Con 20 mL L<sup>-1</sup> de cianamida, aplicados 45 días antes de la brotación normal, se alcanzó 96 % de brotación en yemas apicales y 67 % en yemas laterales;

mientras que con tiazurón a 0.7 mL L<sup>-1</sup> se registró 69 % de brotación en yemas apicales y 47 % en yemas laterales.

### AGRADECIMIENTOS

La realización de este trabajo fue posible con el financiamiento parcial de UNIFRUT, SIVILLA y la colaboración del Sr. Abraham Olfert.

### BIBLIOGRAFÍA

- Amberger A (1984)** Uptake and metabolism of hydrogen cyanamide in plants. *In: Proceedings of Bud Dormancy in Grapevines: Potential and Practical Uses of Hydrogen Cyanamide on Grapevines.* R J Weaver, J O Johnson, A S Wicks (eds). University of California, Davis. pp:5-10.
- Amthor S J (1989)** Respiration and Crop Productivity. Springer-Verlag. New York. pp:34-35.
- Carvajal-Millán E, F Goycoolea-Valencia, V M Guerrero-Prieto, J Llamas-Llamas, A Rascón-Chu, J A Orozco-Avitia, C Rivera-Figueroa, A A Gardea (2000)** Caracterización calorimétrica de la brotación de yemas florales de manzano. *Agrociencia* 34: 543-551.
- Criddle R S, A J Fontana, D R Rank, D Paige, LD Hansen, R W Breidenbach (1991)** Simultaneous measurement of metabolic heat rate, CO<sub>2</sub> production and O<sub>2</sub> consumption by microcalorimetry. *Anal. Biochem.* 194:413- 417.
- Dozier Jr. W A, A A Powell, A W Caylor, N R McDaniel, E L Carden, J A McGuire (1990)** Hydrogen cyanamide induces budbreak of peaches and nectarines following inadequate chilling. *HortScience* 25(12):1573-1575.
- Erez A (1987)** Chemical control of budbreak. *HortScience* 22(6):1240-1243.
- Faust M, A Erez, L J Rowland, S Y Wang, H A Norman (1997)** Bud dormancy in perennial fruit trees: Physiological basis for dormancy induction, maintenance, and release. *HortScience* 32(4): 623-628.
- Fuchigami L H, C C Nee (1987)** Degree growth stage model and rest-breaking mechanisms in temperate woody perennials. *HortScience* 22(5):836-842.
- Gardea A A, E Carvajal-Millán, J A Orozco, V M Guerrero, J Llamas (2000)** Effect of chilling on calorimetric responses of dormant vegetative apple buds. *Thermoch. Acta* 349: 89-94.
- Gil-Salaya F G (1997)** Fruticultura: El Potencial Productivo. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. pp:109-110.
- Kobayashi D K (1987)** Mechanisms of rest and dormancy. *HortScience* 22 (5): 816.
- Luis-Aguilar A (1977)** Efecto de dnosbf y aceite sobre brotación y producción en manzano (*Malus sylvestris* Mill) bajo condiciones de invierno benigno en la región de Canatlán, Dgo. Tesis Profesional. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Uruapan, Mich. México. pp:1-2.
- Nir G, Y Shulman, L Fanberstein, S Lavee (1984)** The involvement of catalase in the dormancy of grapevine buds. *In: Proceedings of Bud Dormancy in Grapevines: Potential and Practical Uses of Hydrogen Cyanamide on Grapevines.* R J Weaver, J O Johnson, d A S Wicks (eds). University of California, Davis. pp:40-43.
- Steffens L G, G W Stutte (1989)** Thidiazuron substitution for chilling requirement in three apple cultivars. *J. Plant Growth Regul.* 8: 301-307.
- Young E (1990)** Changes in respiration rate and energy of activation after chilling and forcing dormant apple trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 115 (5): 809-814.
- Wang S Y, M Faust, L G Steffens (1985)** Metabolic changes in cherry flower buds associated with breaking of dormancy in early and late blooming cultivars. *Physiol. Plant.* 65:89-94.
- Wang S Y, H J Jiao, M Faust (1991a)** Changes in superoxide dismutase activity during thidiazuron-induced lateral budbreak of apple. *HortScience* 26(9): 1202-1204.
- \_\_\_\_\_ (1991b) Changes in metabolic enzyme activities during thidiazuron-induced lateral budbreak of apple. *HortScience* 26(2): 171-173.
- Westwood M N (1978)** Temperate Zone Pomology. WH Freeman and Company. San Francisco, USA. pp:299-302.
- Williams L E, R J Smith (1984)** The effect of cyanamide application on the growth and development of Thompson Seedless grapevines used for raisin production: Preliminary results. *In: Proceedings of Bud Dormancy in Grapevines: Potential and Practical Uses of Hydrogen Cyanamide on Grapevines.* R J Weaver, J O Johnson, d A S Wicks (eds). University of California, Davis. pp:56-58.