

# EFFECTOS DE PROHEXADIONA – Ca EN TOMATE Y SU RELACIÓN CON LA VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GIBBERELINAS Y CITOCININAS

H. Ramírez<sup>1</sup>; R. M. Peralta-Manjarrez<sup>1</sup>; A. Benavides-Mendoza<sup>1</sup>; A. Sánchez-López<sup>1</sup>; V. Robledo-Torres<sup>1</sup>; J. Hernández-Davila<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.  
Correo-e: homeror@terra.com.mx (<sup>1</sup>Autor responsable)

## RESUMEN

La investigación se realizó con el propósito de conocer los efectos de prohexadiona-Ca (P-Ca) sobre el crecimiento vegetativo-reproductivo y su relación con giberelinas y citocininas endógenas en híbridos experimentales de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 'Saladette' con hábito de crecimiento determinado e indeterminado. Se aplicó el retardante de crecimiento a plantas de tomate en invernadero cuando éstas alcanzaron 12 hojas verdaderas a concentraciones de 0 (testigo), 175 y 250 mg-litro<sup>-1</sup>. Los resultados mostraron que el bioregulador provocó una notable reducción en la altura de la planta durante seis días posteriores a la aplicación en ambos híbridos. Este efecto fue revertido desde 8 días después del tratamiento. El número de entrenudos, número de hojas, diámetro de tallo, número de racimos y frutos, peso del fruto, sólidos solubles, firmeza del fruto y producción por planta se incrementaron por efecto del tratamiento con prohexadiona de calcio, mientras que el radio del fruto no fue afectado. Las concentraciones de P-Ca utilizadas, redujeron los niveles de giberelinas y aumentaron los de citocininas en meristemos apicales. En estos tejidos se identificaron las giberelinas A<sub>12</sub>, A<sub>20</sub>, y zeatina. En ápices testigo se encontraron las giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>7</sub> y zeatina.

**PALABRAS CLAVE ADICIONALES:** *Lycopersicon esculentum* Mill., regulador de crecimiento, jitomate, crecimiento, hormonas endógenas.

## EFFECTS OF PROHEXADIONE – Ca ON TOMATOS AS RELATED TO THE VARIATION IN THE CONCENTRATION OF GIBBERELLINS AND CYTOKININS

### ABSTRACT

The present study was conducted for purpose of determining the effects of prohexadione – Ca (P-Ca) on the vegetative and reproductive growth related to endogenous gibberellins and cytokinins in two experimental saladette tomato hybrids (*Lycopersicon esculentum* Mill.) with determinate and indeterminate growth habit. The P-Ca was sprayed when plants reached 12 true leaves at a concentration of 0 (control), 175 and 250 mg-liter<sup>-1</sup>. The results showed that both P-Ca concentrations reduced plant height at six days after treatment in both hybrids. This effect was reverted 8 days after P-Ca treatment. Internodal number, leaf number and shoot diameter were increased with P-Ca treatments in both tomato cultivars. Fruit and raquis number, fruit weight, fruit firmness, total soluble solids and total plant yield also increased with P-Ca, whereas fruit radius was not affected. Both concentrations of P-Ca reduced the levels of gibberellins in apical meristems and increased the cytokinin content. Gibberellins A<sub>12</sub>, A<sub>20</sub> and zeatin were identified in these tissues. In control sample apexes gibberellins A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub>, A<sub>7</sub> and zeatin were found.

**ADDITIONAL KEY WORDS:** *Lycopersicon esculentum* Mill., growth regulators, tomato, endogenous hormones.

## INTRODUCCIÓN

El tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es una hortaliza con un alto valor comercial y una enorme importancia

mundial, debido a la gran cantidad de divisas que genera a los países que lo producen. México ocupa el segundo lugar a nivel mundial como país exportador y el décimo lugar

como país productor de tomate con volúmenes anuales promedios de 569 mil toneladas en la última década (Ramírez y Benavides, 2003). La superficie cultivada en México es alrededor de 100,000 hectáreas. El 70 % de esta área, concentra a los estados de Sinaloa, Baja California Norte, San Luis Potosí y Michoacán. La superficie de producción de tomate bajo invernadero en 2001 registró alrededor de 700 hectáreas. En México el 80 % de la producción de tomate se destina al consumo interno, principalmente el de tipo Saladette (Castellanos y Muñoz, 2003).

El tomate 'Saladette' presenta un hábito de crecimiento determinado e indeterminado. En ambos, el primer crecimiento de la planta privilegia la formación de un área foliar importante, destinado en principio al proceso fotosintético, para responder a los requerimientos energéticos en los puntos de crecimiento de la planta. Por lo tanto, el manejo apropiado de la planta tiene gran importancia en la producción de frutos, 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 racimo que está diferenciándose, evitando un crecimiento excesivo de brotes, permitiendo obtener una producción competitiva con una buena calidad de frutos cosechados y vida productiva de la planta (Pilatti, 1997).

Una de las características que más se ha buscado modificar en el desarrollo del tomate, es tener plantas de menor altura y más compactas lo que permite sembrar una mayor densidad por hectárea (Rojas-Garcidueñas y Ramírez, 1999). Para lograr controlar la altura que en forma natural alcanzan las plantas, se han utilizado retardantes de crecimiento en varias especies vegetales, obteniendo generalmente buenos resultados, ya que actúan como inhibidores de la biosíntesis de giberelinas resultando en un crecimiento vegetativo menor y una modificación en la translocación de asimilados. Este cambio, estimula el incremento en el número de formación de flores (Sánchez, 2003). En tomate se han evaluado distintos productos con acción en la inhibición de la biosíntesis de giberelinas, como daminozida y clormequat (Rojas-Garcidueñas y Ramírez, 1996). Sin embargo, Owens y Stover (1999), refieren que aunque estos productos inhiben el alargamiento y en algunas ocasiones promueven la floración en plantas, presentan el inconveniente de una extensa persistencia en el tejido vegetal y efectos toxicológicos al ser humano, por lo tanto tienen restricciones de uso. Recientemente, se ha reportado a la prohexadiona de calcio (P-Ca) como un bioregulador que aparentemente actúa inhibiendo la biosíntesis de giberelinas virtualmente sin toxicidad y que tiene una persistencia limitada (Fallahi, 1999 y Evans *et al.*, 1997). Sin embargo, su mecanismo de acción aún no es definido totalmente desde el punto de vista hormonal endógeno (Costa *et al.*, 2004). Con base en lo anterior, la presente investigación se realizó con el objeto de evaluar los efectos de P-Ca en el crecimiento vegetativo y

reproductivo de híbridos experimentales de tomate 'Saladette' de hábito determinado e indeterminado y relacionarlos con la variación de la concentración de giberelinas y citocininas endógenas en meristemos apicales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México. En el verano de 2003, plántulas de dos híbridos experimentales de tomate 'Saladette' con hábito de crecimiento de tipo determinado e indeterminado, fueron transplantadas en un invernadero, en bolsas de plástico con sustrato de peat moss, perlita y vermiculita (6:2:2). El cultivo fue manejado de acuerdo al paquete tecnológico utilizado en el Departamento de Horticultura (Benavides, 2002).

Una vez establecidas en el invernadero las plantas fueron tratadas con 0 (testigo), 175 y 250 mg·litro<sup>-1</sup> de prohexadiona de calcio. En cada aplicación de este material se agregó el surfactante líquido polioxietileno-polipropoxipropanol (Bionex) a razón de 1 ml·litro<sup>-1</sup> de agua. Las condiciones climáticas dentro del invernadero se mantuvieron a 27 °C y 65 % de humedad relativa.

### Fase I. Influencia en el crecimiento vegetativo, productivo y calidad de fruto

Después del trasplante, cuando las plantas de tomate en ambos híbridos alcanzaron 12 hojas verdaderas, se aplicaron los tratamientos mediante aspersion. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con los tres tratamientos referidos, seleccionando nueve plantas de cada grupo de híbridos por tratamiento. Los efectos de los tratamientos sobre el crecimiento del tallo principal se evaluaron cada tercer día durante 12 días y 19 días después de la aplicación. Las variables complementarias evaluadas en cosecha fueron: número de entrenudos, número de hojas por planta, diámetro del tallo, número de racimos por planta, número de frutos por planta, peso del fruto, radio del fruto, firmeza del fruto, sólidos solubles totales del fruto y producción total por planta. Los datos se analizaron con la prueba de Tukey al 1 y 5 % de nivel de significancia. La evaluación de los parámetros vegetativos referidos se realizó con una cinta métrica escala 0 a 2 m y un vernier Modelo Effegi escala 0 a 12 cm. El radio de fruto se obtuvo de la división entre la longitud y diámetro del mismo (Ramírez *et al.*, 2003) utilizando el vernier referido; el peso del fruto se efectuó empleando una balanza digital Satorious Electronic Toploader (1006 MP9); mientras que la producción total por planta fue obtenida utilizando una báscula Roca. La firmeza del fruto se determinó con un penetrómetro "Fruit pressure tester" Modelo FT327. Los sólidos solubles totales (SST, °Brix) se midieron con un refractómetro óptico manual Modelo ACT-1, escala 0 a 32

% °Brix. Los caracteres de frutos evaluados se efectuaron en 32 frutos al azar por tratamiento.

## Fase II. Hormonas endógenas

### Análisis hormonal

Con el propósito de establecer la influencia hormonal endógena del prohexadiona-Ca sobre el crecimiento vegetativo, de cada grupo de híbridos de tomate de un lote similar y con el mismo diseño experimental referido en la fase I con los tratamientos aplicados, se tomaron muestras de 30 ápices en cada ocasión de plantas testigos y de aquellos que recibieron 175 y 250 mg<sup>l</sup>litro<sup>-1</sup> de P-Ca. Este muestreo se realizó a los 0, 1, 2, 3, 4, 5, 12 y 19 días después de la aplicación del retardante. Tan pronto se desprendió de la planta, cada muestra fue transferida inmediatamente a nitrógeno líquido. Las muestras fueron liofilizadas y pulverizadas previamente para 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 24 °C. Esta actividad se repitió en dos ocasiones con igual cantidad de metanol (100 %) cada cuatro horas a la misma temperatura. Los tres filtrados reunidos en un matraz bola de 250 ml, fueron evaporados a 50 °C para eliminar el 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 reportada por Ramírez *et al.* (2001). Enseguida, las muestras se sometieron a cromatografía de capa fina preparativa (CCF) utilizando sílica gel GF254, y como eluyente la mezcla de isopropanol-amoniaco-agua (10:1:1) (v:v:v) durante cuatro horas. Como referencia se utilizó giberelina A<sub>4/7</sub> la cual se localizó en los Rf 0.5–0.7 con luz ultravioleta. De cada muestra, por los Rf, las giberelinas fueron separadas para su medición analítica (Stephan *et al.*, 1998). Cada muestra purificada fue metilada con diazometano preparado *in situ* y el contenido de giberelinas fue 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 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<sup>-1</sup>. La giberelina A<sub>4/7</sub> fue utilizada como referencia analítica en la 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 A<sub>4/7</sub> disueltos en acetona-metanol (50:50) (v:v) (Stephan *et al.*, 1998). 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 trimetilclorosilano 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 este equipo se instalaron columnas de vidrio salinizadas (213 x 0.2 cm) con 2 % de Se-33, en 88-100 de gas chorm Q. La proporción de flujo fue de 25 ml·min<sup>-1</sup> y la temperatura de la columna fue programada entre 180 a 280 °C a 2 °C·min<sup>-1</sup>. 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 silitos con las muestras originales en el espectro de EM (Ramírez *et al.*, 2001).

### Citocininas

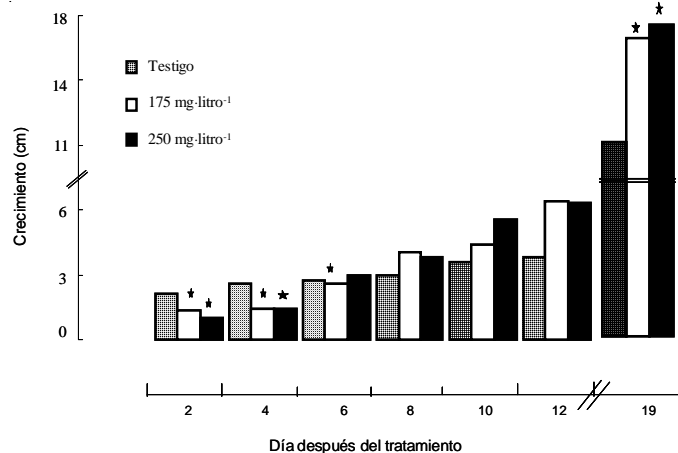
La extracción de citocininas se realizó con el procedimiento descrito para giberelinas. La purificación de cada muestra se obtuvo al pasarla a través de una columna HP3 de 13 cm de largo por 2.5 cm de diámetro interno y empacada con la resina de intercambio catiónico Dowex 50 WX8. Conservando la columna 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 cromatógrafo líquido de alta resolución (CIAR). Como referencia de citocininas, se utilizó zeatina a concentraciones de 1, 10 y 100 ng disueltos en acetona-metanol. Las muestras con mayor número 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.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

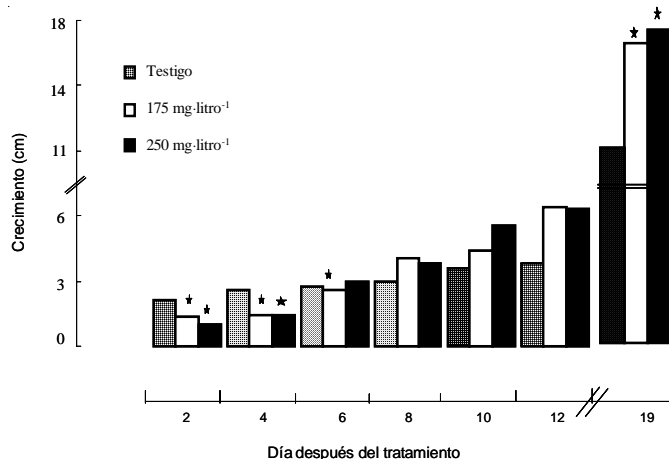
### Crecimiento vegetativo

El retardante a concentraciones de 175 y 250 mg·litro<sup>-1</sup> originó una reducción significativa en la altura de la planta entre dos y seis días posteriores al tratamiento ( $P \leq 0.05$ ) en plantas de hábito indeterminado (Figura 1). Este efecto en las plantas fue revertido desde 8 días después de haber sido asperjadas con el bioregulador. El híbrido de hábito de crecimiento determinado mostró un patrón similar después de la aplicación de prohexadiona de calcio a las mismas concentraciones (Figura 2). El efecto del retardante en la concentración alta también estuvo asociado con un notable incremento en el diámetro del tallo, número de entrenudos y número total de hojas por planta tanto en el híbrido de crecimiento determinado como en el de crecimiento indeterminado (Cuadro 1). En ambos casos las diferencias en esos parámetros al compararse con los testigos, mostraron significancia ( $P \leq 0.01$ ).

Los efectos observados de P-Ca en ambos híbridos de tomate sobre la reducción en la altura de la planta en los primeros seis días posteriores al tratamiento (Figuras 1 y 2) y el aumento en el diámetro del tallo, número de entrenudos y número de hojas por planta (Cuadro 1) no ha sido previamente reportado en tomate. Otros retardantes



**FIGURA 1.** Efecto de prohexadiona de calcio sobre el crecimiento de la planta de tomate 'Saladette' de hábito indeterminado. \*Significativo a una  $P \leq 0.05$  de acuerdo a la prueba de Tukey.



**FIGURA 2.** Efecto de prohexadiona de calcio sobre el crecimiento de la planta de tomate 'Saladette' de hábito determinado. \*Significativo a una  $P \leq 0.05$  de acuerdo a la prueba de Tukey.

de crecimiento como Cycocel (Rojas-Garcidueñas y Ramírez, 1996) y Alar (López-Valencia *et al.*, 2002) han mostrado su efecto en la reducción de altura de plantas de tomate cuando éstas fueron asperjadas a concentraciones de 1,000 y 1,500 mg·litro<sup>-1</sup> al alcanzar una edad de 25 días. En otras especies como manzano (Basak y Rademacher, 2000) y peral (Costa *et al.*, 2001), el P-Ca ha mostrado ser un potente reductor del crecimiento vegetativo cuando es aplicado en un rango de 180 a 270 mg·litro<sup>-1</sup> al inicio del brote apical. El aumento en el diámetro del tallo y número de entrenudos ha sido reportado en manzano Golden Delicious cuando P-Ca es aplicado a 250 mg·litro<sup>-1</sup> al nuevo brote una vez que alcanzó 5 cm de crecimiento nuevo en la primavera (Ramírez *et al.*, 2003). La influencia que tiene el P-Ca en la reducción de crecimiento vegetativo en plantas, ha sido explicada por su acción como un bloqueador de síntesis de giberelinas biológicamente activas (Evans *et al.*, 1997; Rademacher, 2004). Al respecto en, la presente investigación, se observó una reducción en los niveles de giberelinas durante los primeros seis días posteriores a los tratamientos con P-Ca en las plantas de ambos híbridos (Figuras 3 y 4). Además, los resultados obtenidos por cromatografía de gases y espectrometría de masas (Cuadro 4) indican que las giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub> y A<sub>7</sub>, caracterizadas por ser biológicamente activas (Evans *et*

**CUADRO 1.** Efectos de prohexadiona de calcio (P-Ca) al inicio del primer corte en el crecimiento de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 'Saladette'.

Tratamiento	Diámetro del tallo (mm)		Entrenudos por planta		Hojas por planta	
	Indet.	Det.	Indet.	Det.	Indet.	Det.
Testigo	10.28 b <sup>z</sup>	10.34 b	26 b	24 b	344 b	290 b
P-Ca 175 mg·litro <sup>-1</sup>	11.17 ab	12.14 a	30 a	27 ab	417 ab	317 ab
P-Ca 250 mg·litro <sup>-1</sup>	12.13 a	12.25 a	30 a	33 a	464 a	349 a

<sup>z</sup>Valores con la misma letra son iguales estadísticamente por columna de acuerdo a la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.01$ .

\*Cada valor representa la media de nueve plantas.

indet.: hábito indeterminado; Det.: hábito determinado.

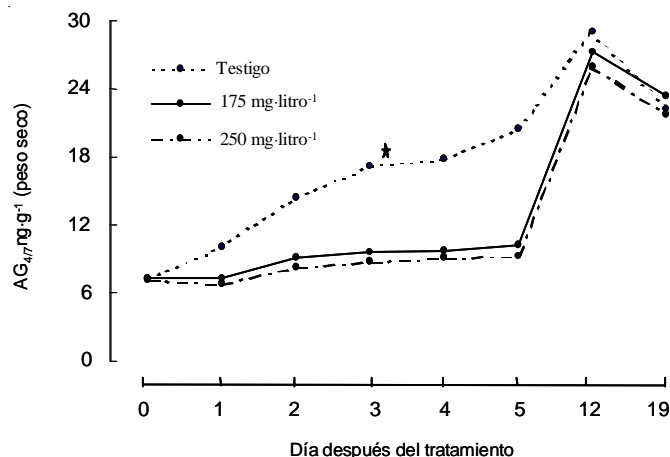


FIGURA 3. Efecto de prohexadiona de calcio sobre el contenido de giberelinas en ápices de tomate saladette de crecimiento indeterminado. \*Significativo a una  $P \leq 0.05$  de acuerdo a la prueba de Tukey.

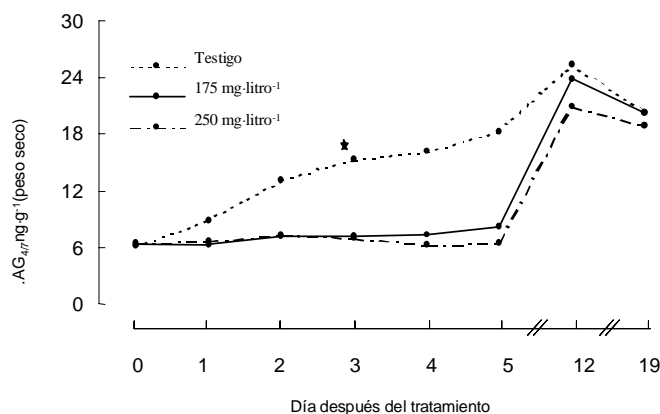


FIGURA 4. Efecto de prohexadiona de calcio sobre el contenido de giberelinas en ápices de tomate 'Saladette' de crecimiento determinado. \*Significativo a una  $P \leq 0.05$  de acuerdo a la prueba de Tukey.

*al.*, 1997) no aparecen durante los primeros seis días después del tratamiento con el retardante (Figuras 3 y 4). Lo anterior debido probablemente al bloqueo de su síntesis identificándose, por lo tanto, en ese momento solamente las giberelinas  $A_{12}$  y  $A_{20}$  (Cuadro 4), caracterizadas como biológicamente inactivas (Ramírez *et al.*, 2001; Rademacher y Kober, 2003). Estas giberelinas inactivas

se mantienen como tales con la presencia de P-Ca en su metabolismo al inhibirse la producción de dioxigenasas responsables de catalizar el proceso que desencadena la producción de las giberelinas activas  $A_1$ ,  $A_4$  y  $A_7$  (Rademacher, 2004). La recuperación en el crecimiento vegetativo que se observó en ambos híbridos de tomate a partir de los 8 días posteriores al tratamiento con ambas dosis del retardante de crecimiento (Figuras 1 y 2), presumiblemente resulta del retorno en la actividad biológica de las giberelinas  $A_1$ ,  $A_4$  y  $A_7$  (Figuras 3 y 4). Estas hormonas probablemente estarían estimulando el alargamiento rápido de células apicales (Srivastava, 2002), las cuales estuvieron reprimidas durante la acción retardante del biorregulador aplicado. Lo anterior tiene el sustento de que P-Ca es un retardante de crecimiento muy inestable que al ingresar al tejido vegetal, pierde su actividad biológica entre 2 a 4 días (Evans *et al.*, 1997). Por lo tanto, este bioregulador pudiera estar bloqueando por un periodo muy corto la síntesis de  $AG_1$ ,  $AG_4$  y  $AG_7$ .

El aumento en el número de entrenudos, diámetro del tallo y número de hojas en las plantas que recibieron el P-Ca (Cuadro 1), pudiera reflejar el aumento de citocininas endógenas por el retardante en el ápice de las plantas (Figuras 5 y 6), en particular la zeatina (Figura 8). Se conoce

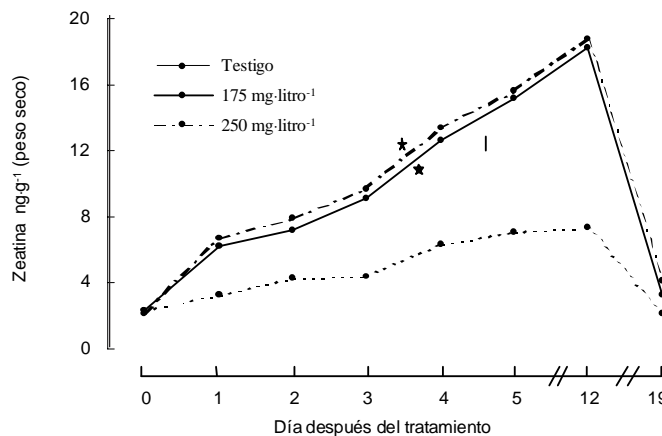


FIGURA 5. Efecto de prohexadiona de calcio sobre el contenido de citocininas en ápices de tomate 'Saladette' de crecimiento indeterminado. \*Significativo a una  $P \leq 0.05$  de acuerdo a la prueba de Tukey.

CUADRO 2. Efectos de prohexadiona de calcio (P-Ca) sobre parámetros productivos del fruto de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 'Saladette'.

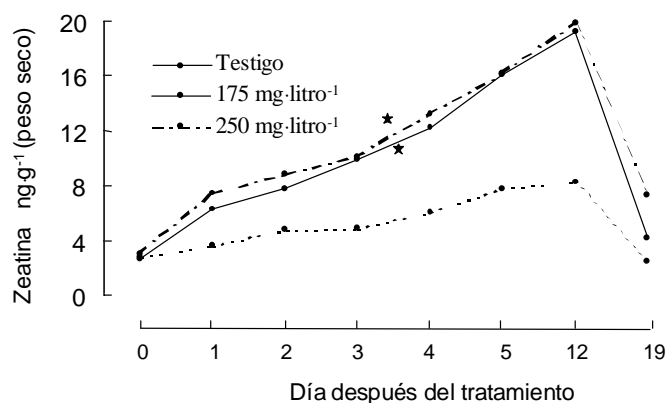
Tratamiento	Racimos por planta <sup>x</sup>		Frutos por planta <sup>x</sup>		Peso por fruto <sup>y</sup> (g)		Producción por planta <sup>x</sup> (g)	
	Indet.	Det.	Indet.	Det.	Indet.	Det.	Indet.	Det.
Testigo	6 a <sup>z</sup>	5 b	18 b	16 c	42.5 c	62.9 a	1118.38 b	666.88 c
P-Ca 175 mg·litro <sup>-1</sup>	6 a	5 b	25 a	19 b	62.5 a	63.4 a	1579.33 a	1201.64 a
P-Ca 250 mg·litro <sup>-1</sup>	6 a	6 a	23 a	23 a	51.0 b	61.3 a	1423.54 a	1167.59 b

<sup>z</sup>Valores con la misma letra son iguales estadísticamente por columna de acuerdo a la prueba de Tukey con  $P \leq 0.05$ .

<sup>x</sup>Cada valor representa la media de nueve plantas.

<sup>y</sup>Cada valor representa la media de 32 frutos.

Indet.: hábito indeterminado; Det.: hábito determinado.



**FIGURA 6.** Efecto de prohexadiona de calcio sobre el contenido de citocininas en ápices de tomate 'Saladette' de crecimiento determinado. \*Significativo a una  $P \leq 0.05$  de acuerdo a la prueba de Tukey.

que las citocininas contribuyen directamente en la diferenciación de tejidos vegetales (Rojas-Garcidueñas y Ramírez, 1996; Srivastava, 2002). La presencia nuevamente de giberelinas a partir del día 19 en las plantas tratadas con P-Ca (Figuras 3 y 4) recuperan el crecimiento vegetativo en las mismas (Figuras 1 y 2). Esta respuesta también pudo contribuir al incremento en el número mayor de hojas por planta al compararse con el testigo (Bazzi *et al.*, 2003).

### Producción y calidad de fruto

Se observó en el híbrido de hábito de crecimiento indeterminado que ninguna de las concentraciones utilizadas con el retardante influyeron en el número de racimos por planta (Cuadro 2). Lo contrario sucedió en el híbrido de hábito de crecimiento determinado en donde la concentración de 250 mg.litro<sup>-1</sup> de P-Ca produjo un incremento en esta variable. El número de frutos por planta fue incrementado significativamente en ambos híbridos cuando se aplicaron 175 y 250 mg.litro<sup>-1</sup> de P-Ca ( $P \leq 0.05$ ). En cambio la influencia del retardante de crecimiento sobre el peso del fruto solamente originó un incremento en el mismo cuando se aplicaron las concentraciones referidas en las plantas de tomate con hábito de crecimiento indeterminado. La producción por planta en los tratamientos con P-Ca en

ambos materiales experimentales mostraron incrementos significativos. En particular fue interesante observar que los tratamientos con el retardante de crecimiento en el híbrido de crecimiento determinado virtualmente duplicaron su producción al compararse con el testigo. El radio del fruto no mostró cambios significativos con los tratamientos de prohexadiona de calcio. Sin embargo, se pudo observar que la firmeza fue significativamente mayor en el híbrido de crecimiento determinado ( $P \leq 0.05$ ), mientras que en el de crecimiento indeterminado solamente mostró tendencia en este atributo. El contenido de sólidos solubles totales también fue mayor en los frutos procedentes de plantas de hábito indeterminado que recibieron el tratamiento de P-Ca a cualquier concentración.

La influencia de prohexadiona de calcio en el aumento de frutos por planta, peso de fruto y producción por planta ha sido característica en otras especies frutales como manzana (Greene, 1996; Unrath, 1999; Basak y Rademacher, 2000) y pera (Costa *et al.*, 2004). Estos efectos han sido ligados a un incremento en el cuajado de frutos (Rademacher y Kober, 2003). Es probable que en este estudio, al reducirse el crecimiento vegetativo de la planta (Figuras 1 y 2), también se reduzca la competencia de alimentos entre este proceso y los frutos que permanecen en desarrollo y por lo tanto se aumente las condiciones energéticas para que estos permanezcan cuajados (Ramírez, 2000). El incremento en el peso del fruto observado en el híbrido de crecimiento indeterminado estaría enlazado a una mayor disponibilidad de fotosintatos para su desarrollo como resultado de un mayor número de hojas por planta (Cuadro 1 y 2). Esta relación también ha sido observada en tomate cuando las plantas recibieron una fertilización nitrogenada en combinación con los retardantes de crecimiento ácido N-dimetil amino succinámico y cloruro de 2-cloroetil trimetilamonio (Rojas-Garcidueñas y Ramírez, 1999). El aumento en la firmeza del fruto con los tratamientos de P-Ca en el híbrido de crecimiento determinado (Cuadro 3) es un efecto que caracteriza a este retardante cuando es aplicado a especies frutales (Yoder *et al.*, 1999). Esta característica es de suma importancia para aumentar la vida de anaquel de esta hortaliza. El incremento en sólidos solubles totales observados en el híbrido con crecimiento indeterminado

**CUADRO 3.** Efectos de prohexadiona de calcio sobre parámetros de calidad del fruto de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) 'Saladette'.

Tratamiento	Radio de fruto <sup>1</sup> (longitud/diámetro)		Firmeza en fruto <sup>2</sup> (kg-cm <sup>2</sup> )		Sólidos solubles totales en fruto <sup>3</sup> (°Brix)	
	Indet.	Det.	Indet.	Det.	Indet.	Det.
Testigo	1.24 a <sup>2</sup>	1.16 a	2.55 a	1.96 b	5.79 b	5.51 a
P-Ca 175 mg.litro <sup>-1</sup>	1.24 a	1.22 a	2.65 a	2.63 a	6.5 a	5.6 a
P-Ca 250 mg.litro <sup>-1</sup>	1.27 a	1.28 a	2.95 a	2.91 a	6.3 a	5.7 a

<sup>2</sup>Valores con la misma letra son iguales por columna de acuerdo a la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ .

<sup>3</sup>Cada valor representa la media de 32 frutos.

indet.: hábito indeterminado; Det.: hábito determinado.

en ambas concentraciones de P-Ca y la tendencia mostrada también en los frutos del híbrido con crecimiento determinado pudieran explicarse presumiblemente en términos de un incremento en la capacidad fotosintética total de la planta, y por lo tanto, mayor disponibilidad de azúcares para el fruto como resultado de un mayor número de hojas en la misma (Srivastava, 2002).

### Hormonas endógenas

Los tratamientos con prohexadiona de calcio originaron una reducción significativa en los niveles endógenos de giberelinas en el ápice de los híbridos con crecimiento indeterminado (Figura 3) y crecimiento determinado (Figura 4). La reducción en el contenido de giberelinas se mantuvo en niveles bajos durante los cinco días posteriores al tratamiento con el retardante de crecimiento ( $P \leq 0.05$ ). La recuperación de estas hormonas en el tejido vegetativo ocurrió a partir del sexto día después del tratamiento adquiriendo su máximo nivel 12 días después del tratamiento. A partir de esa fecha y hasta el día 19 los niveles de giberelinas de ambos híbridos con las de 175 y 250 mg·litro<sup>-1</sup> fueron muy similares a los ápices de las plantas testigo (Figuras 1 y 2).

El contenido de citocininas endógenas en los ápices de ambos híbridos tratados con P-Ca mostraron un patrón opuesto al observado en las giberelinas durante los primeros 12 días posteriores al tratamiento. En ambos híbridos se pudo observar que el retardante de crecimiento indujo un incremento significativo en el contenido de citocininas ( $P \leq 0.05$ ). El comportamiento de estas hormonas naturales fue similar en ambos híbridos de tomate, presentando una drástica reducción en su nivel a partir del día 12 y un mínimo en el día 19 posterior al tratamiento con P-Ca (Figuras 5 y 6). 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<sub>12</sub> y A<sub>20</sub> y zeatina. Los ápices testigo mostraron la presencia de las giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub> y A<sub>7</sub> además de zeatina (Cuadro 4).

Los cambios en el perfil hormonal de plantas vegetales causadas por la aplicación de retardantes de crecimiento están claramente ilustrados en varias especies hortícolas (Rojas-Garcidueñas y Ramírez, 1996). Prohexadiona de calcio es probablemente el retardante de crecimiento de más reciente creación (Rademacher *et al.*, 1998). Se ha reportado también que prohexadiona de calcio tiende a aumentar los niveles de citocininas en tejidos como meristemos apicales y semillas inmaduras (Evans *et al.*, 1999). Este efecto ha sido relacionado con el estímulo en la formación de flores y hojas en diversas especies frutales (Evans *et al.*, 1999; Owens y Stover, 1999). Los resultados observados en la presente investigación, en particular la reducción de giberelinas (Figuras 3 y 4, Cuadro 4) y aumento de citocininas (Figuras 5 y 6, Cuadro 4) son consistentes con las experiencias señaladas.

### CONCLUSIONES

La aplicación de prohexadiona de calcio (175 y 250 mg·litro<sup>-1</sup>) a plantas de tomate de crecimiento determinado e indeterminado, redujo el crecimiento vegetativo y aumentó el número de entrenudos, número de hojas y diámetro del tallo, número de frutos por planta, peso del fruto, firmeza del fruto y producción por planta. La Prohexadiona de Ca redujo los niveles de giberelinas y aumentó los de citocininas en meristemos apicales. Este retardante provocó el bloqueo de la síntesis de giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>4</sub> y A<sub>7</sub>.

### LITERATURA CITADA

- BASAK, A.; RADEMACHER, W. 2000. Growth regulation of pome and stone fruits trees by use of Prohexadione-Ca. *Acta Horticulturae* 514: 41-50.
- BAZZI, C.; MESSINA, C.; TORTORETO, L.; BINI, F.; CECCA, G. S.; STEFANI, E. 2003. Investigations on the possible use of abiotic and biotic elicitors in defence-related responses in plants. *European Journal of Horticultural Science* 68(3):115-122.
- BENAVIDES, M. A. 2002. *Ecofisiología y Bioquímica del Estrés de las Plantas*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, México.

**CUADRO 4. Giberelinas y citocininas presentes en ápices de tomate cv. Saladette de hábito de crecimiento determinado e indeterminado. Las hormonas fueron identificadas con cromatografía de gases y espectrometría de masas.**

Hormonas	IRK <sup>2</sup>	Intensidad Relativa de iones principales (porcentaje de pico base)
Giberelinas		
A <sub>1</sub>	2,651	[506(100), 491(10), 448(14), 416(3), 375(18)]
A <sub>4</sub>	2,488	[418(21), 403(2), 400(12), 386(25), 284(100)]
A <sub>7</sub>	2,416	[504(13), 370(12), 280(15), 221(16), 156(25)]
A <sub>12</sub>	2,472	[344(16), 105(100), 211(12), 195(20), 183(13)]
A <sub>20</sub>	2,468	[418(100), 403(17), 387(6), 375(82), 359(19)]
Citocininas		
Zeatina	2,174	[219(63), 184(25), 105(25)]

<sup>2</sup>Índice de retención Kovats

- CASTELLANOS, J. Z.; MUÑOZ R. 2003. La industria de la horticultura protegida en México, pp. 1-17. *In: Manual de Producción Hortícola en Invernadero*. MUÑOZ-RAMOS, J. J.; CASTELLANOS, J. Z. (eds.). INCAPA. D. F., México.
- COSTA, G.; SABATINI, E.; SPINELLI, F.; ANDREOTTI, C.; BOMBEN, C.; VIZZOTO, G. 2004. Two years of application of P-Ca on apple: Effect on vegetative and cropping performance, fruit quality, return bloom and residual effect. *Acta Horticulturae* 653: 49-57
- COSTA, G.; SABATINI, E.; SPINELLI, F.; ANDREOTTI, C.; SPADA, G.; MAZINI, F. 2004. Prohexadione-Ca control vegetative growth and cropping performance in pear. *Acta Horticulturae* 653: 43-48
- 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.; EVANS, R. R.; REGUSCI, C. L.; RADEMACHER, W. 1999. Mode of action, metabolism and uptake of BAS-125W Prohexadione-calcium. *HortScience* 34: 1200-1201.
- FALLAHI, E. 1999. Metabolism, action and use of BAS-125W in apples. *HortScience* 34: 1192-1193.
- GREENE, D. W. 1996. The use of BAS 125W to control growth of apple trees. *Proceedings PGRSA* 24(1-2): 59.
- LÓPEZ-VALENCIA, M.; SÁNCHEZ-DEL CASTILLO, F.; CONTRERAS-MAGAÑA, E. 2002. Efecto de cycocel y B-9 sobre plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) manejadas a dos racimos. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 8(2): 161-170.
- OWENS, L.; STOVER, E. 1999. Vegetative growth and flowering of young apple trees in response to prohexadione-calcium. *HortScience* 34: 1194-1196.
- PILATTI, R. A. 1997. *Cultivo Bajo Invernaderos*. Ed. Hemisferio Sur, S.A. Universidad Nacional del Litoral. Buenos Aires, Argentina.
- RADEMACHER, W.; KRAUS, M.; HOEPPNER, 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 19984296 RAD*, BASF Agricultural Center.
- RADEMACHER, W. 2004. Chemical regulation of shoot growth in fruit trees. *Acta Horticulturae* 653: 9-15
- RADEMACHER, W.; KOBER, L. 2003. Efficient use of Prohexadione-Ca in pome fruits. *European Journal of Horticultural Science* 68(3):107-107.
- RAMÍREZ, H. 2000. Apple growing in northeastem Mexico. *Acta Horticulturae* 565:139-140.
- RAMÍREZ, H.; HOAD, G. V.; BENAVIDES, A.; RANGEL, E. 2001. Gibberellins in apple seeds and the transport of [<sup>3</sup>H]-GA<sub>4</sub>. *Revista de la Sociedad Química de México* 45(2):47-50.
- RAMÍREZ, H.; BENAVIDES, A. 2003. Horticultural science and industry in Mexico – an overview. *Chronica Horticulturae* 43(3): 20-25
- RAMÍREZ, H.; GÓMEZ-CASTAÑEDA, J. C.; BENAVIDES-MENDOZA, A.; ROBLEDO-TORRES, V.; ENCINA-RODRIGUEZ, L. I.; COELLO-COUTIÑO, C. A. 2003. Influencia de Prohexadione-Ca sobre crecimiento vegetativo-producción y calidad de fruto en manzano (*Malus domestica* Borkh). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 9(2): 279-289.
- ROJAS-GARCIDUEÑAS, M.; RAMÍREZ, R. 1996. *Control Hormonal del Desarrollo de las Plantas*. Editorial Limusa. D. F., México, 239 p.
- SÁNCHEZ B., F. 2003. Obtención de plantas ornamentales compactas, mediante la aplicación de paclobutrazol y podas de formación. Resúmenes del X Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas, IX Congreso Nacional y II Internacional de Horticultura Ornamental. Chapingo, México. p.169.
- SRIVASTAVA, L. M. 2002. *Plant Growth and Development: Hormones and the Environment*. Academic Press. New York, USA. 772 p.
- STEPHAN, M.; BANGERTH, F.; SCHNEIDER, G. 1998. 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. *Acta Horticulturae* 453:113-119.
- UNRATH, C. R. 1999. Prohexadione-Ca: A promising chemical for controlling vegetative growth of apples. *HortScience* 34: 1191-1200.
- YODER, K. S.; MILLER, S. S.; BYERS, R. E. 1999. Suppression of fireblight in apple shoots by prohexadione – calcium following experimental and natural inoculation. *HortScience* 34:1202-1204.