

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



LA ACCIÓN DE LA METAMITRONA COMO AGENTE ACLARANTE DE FRUTOS EN EL MANZANO (*Malus domestica* Borkh.) CV. ROYAL GALA

TRABAJO FIN DE MÁSTER EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL MEDIO RURAL

ALUMNO: ENRIQUE ARIAS GIMÉNEZ

TUTOR: BRUNELLA MORANDI

COTUTOR ACADÉMICO: MANUEL AGUSTÍ FONFRÍA

Curso Académico: 2018-2019

VALENCIA, 8 DE JULIO 2019

RESUMEN:

El aclareo de frutos es actualmente imprescindible si se pretende conseguir manzanas del calibre que exige el mercado. Esta técnica se lleva a cabo manualmente, lo que representa un elevado coste de cultivo. La posibilidad de realizarla químicamente se ha ensayado en numerosas ocasiones, pero con éxito muy escaso. El presente trabajo tiene como objetivo conocer el efecto de la metamitrona (Brevis[®]), una triazinona (4 amino-4,5-dihidro-3-metil-6 fenil-1,2,4-triazin-5-ona) inhibidora del transporte electrónico de la fotosíntesis, en el aclareo de frutos del manzano (*Malus domestica* Borkh.), cv. Royal Gala.

Los experimentos se llevaron a cabo en Bolonia, Italia, en colaboración con el Departamento de Ciencias y Tecnologías Agroalimentarias de la Università degli Studi di Bologna. En el primer experimento se utilizaron 12 árboles con tres tratamientos diferentes (4 árboles por tratamiento). Los tratamientos diferían entre sí en función de la dosis de Brevis[®] aplicada: 0 kg ha⁻¹ (T0 o control), 1.2 kg ha⁻¹ (T1) y 2.0 kg ha⁻¹ (T2). En el segundo experimento se utilizaron 8 plantas con 2 tratamientos diferentes (4 árboles por tratamiento). El tratamiento T0 o control contenía 0 kg ha⁻¹ de metamitrona mientras que el tratamiento T3 contenía 2.0 kg ha⁻¹ del mismo. La diferencia entre un experimento y otro fue la época de aplicación del producto, ya que el primero se aplicó cuando la media del diámetro de los frutos era de 8.7 mm y el segundo se aplicó cuando la media del diámetro de los frutos era de 16.3 mm.

Se midió la fotosíntesis neta de las hojas (P_n , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) con un Li-COR Li-6400XT[®] (LI-COR GmbH, Germany), se realizaron recuentos periódicos de los frutos para cuantificar su caída, y se realizó un seguimiento del tamaño de los mismos hasta la maduración.

La originalidad de este trabajo radica en la relación entre el efecto de la metamitrona sobre la fotosíntesis y la respiración y el crecimiento del fruto.

La aplicación de 1.2 ó 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona 12 d después de la plena floración incrementó la abscisión de frutos comparado con la de los árboles control, e incrementó el tamaño final del fruto entre un 8 y un 9%. Cuando se aplicó 12 d más tarde la abscisión de frutos se anticipó, pero no superó a la de los árboles control, y el incremento en el tamaño del fruto alcanzó el 7% respecto de los controles.

Palabras clave: Manzana, aclareo químico, metamitrona, Brevis[®], fotosíntesis neta, caída de frutos, crecimiento de los frutos.

ABSTRACT:

Fruit thinning is essential to increase fruit size in apples. This technique is carried out manually, but it represents a high cost of cultivation. The possibility of a chemical thinning has been tried frequently, but with very little success. The objective of this study is to know the effect of met amitron (Brevis[®]), a triazinone (4-amino-4,5-dihydro-3-methyl-6-phenyl-1,2,4-triazin-5-one) that acts as an inhibitor of the electronic transport of photosynthesis, on the thinning of apple fruit (*Malus domestica* Borkh), cv. Royal Gala.

The experiment was carried out in Bologna, Italy, in collaboration with the Department of Agri-Food Sciences and Technologies of the Università degli Studi di Bologna. In the first experiment, 4 doses of Brevis[®] [0 kg ha⁻¹ (T0 or control), 1.2 kg ha⁻¹ (T1) and 2.0 kg ha⁻¹ (T2)] were applied to 12 trees randomly selected (4 trees per dose). In the second experiment, 2 doses [0 kg ha⁻¹ (T0 or control), 2.0 kg ha⁻¹ (T3)] were applied to 8 trees (4 trees per dose) randomly selected. The difference between these two experiments was the date of treatment, since the first was applied at 8.7 mm fruit diameter and the second one at 16.3 mm.

Net photosynthesis (Pn, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), were measured with a Li-COR Li-6400XT[®] (LI-COR GmbH, Germany). To quantify fruit abscission, number of fruits was periodically recorded. Fruit diameter was also periodically evaluated until maturity.

The originality of this work lies in the relationship between the effect of met amitron on photosynthesis and respiration and fruit growth.

The application of 1.2 or 2.0 kg ha⁻¹ of met amitron 12 days after the full bloom increased fruitlet abscission compared to untreated trees and increased 8 – 9% final fruit size. When it was applied 12 days later, fruitlet abscission anticipated, but it did not surpass that of the untreated trees, and increased fruit size size by 7% with respect to the controls.

Key words: Apple tree, chemical thinning, met amitron, Brevis[®], net photosynthesis, fruit drop, fruit growth.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora Brunella por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo y por hacerme sentir como en casa a pesar de la barrera del idioma.

A mi cotutor Manolo por su paciencia y gran ayuda. Su pasión y dedicación por la docencia y la investigación son realmente inspiradoras.

A mi familia y amigos por haberme aguantado tanto tiempo hablando del TFM.

Muchísimas gracias.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	ORÍGEN.....	1
1.2	DIFUSIÓN.....	1
1.3	IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA MANZANA EN LA UE	2
1.4	IMPORTANCIA DEL CONTROL DE CULTIVOS EN LOS CULTIVOS DE FRUTO: ACLAREO.	3
1.5	ACLAREO DEL MANZANO	3
1.6	ACLAREO QUÍMICO DEL MANZANO CON METAMITRONA.....	6
2	OBJETIVOS.....	10
3	MATERIAL Y MÉTODOS	11
3.1	CRECIMIENTO Y CAÍDA DE FRUTOS.....	11
3.2	INTERCAMBIO GASEOSO DE LAS HOJAS	13
3.3	INTERCAMBIO GASEOSO DE LOS FRUTOS.....	14
3.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	15
4	RESULTADOS	16
4.1	INTERCAMBIO GASEOSO DE LAS HOJAS	16
4.2	INTERCAMBIO GASEOSO DE LOS FRUTOS.....	17
4.3	CRECIMIENTO Y CAÍDA DE FRUTOS.....	20
5.	DISCUSIÓN.....	27
6	CONCLUSIONES	30
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Valor de la producción de manzanas frescas a precio básico de los principales Estados Miembros de la UE en 2014.....	2
Figura 4.1. Influencia de la aplicación de 1.2 y 2.0 kg ha ⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la floración sobre la actividad fotosintética de hojas de lamburdas del manzano cv. Gala Buckeye® injertado sobre patrón M9 Pajam 2. Fecha de tratamiento, 19 de abril. Cada valor es la media de 4 árboles y una hoja por árbol. Las barras verticales indican el ES. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas (P< 0.05)..	16
Figura 4.2. Influencia de la aplicación de 2.0 kg ha ⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 25 d después de la floración sobre la actividad fotosintética de hojas de lamburdas del manzano cv. Gala Buckeye® injertado sobre patrón M9 Pajam 2. Fecha de tratamiento, 2 de mayo. Cada valor es la media de 4 árboles y una hoja por árbol. Las barras verticales indican ES. * indica diferencia estadísticamente significativa (P< 0.05).....	17
Figura 4.3. Influencia de la aplicación de 1.2 y 2.0 kg ha ⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la floración sobre la fotorrespiración a la luz del fruto del manzano cv. Gala Buckeye® injertado sobre patrón M9 Pajam 2. Fecha de tratamiento, 19 de abril. Cada valor es la media de 4 árboles y un fruto por árbol. Las barras verticales indican el ES. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas (P< 0.05).	18
Figura 4.4. Influencia de la aplicación de 1.2 y 2.0 kg ha ⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la floración sobre la fotorrespiración a la oscuridad del fruto del manzano cv. Gala Buckeye® injertado sobre patrón M9 Pajam 2. Fecha de tratamiento, 19 de abril. Cada valor es la media de 4 árboles y un fruto por árbol. Las barras verticales indican el ES.....	19
Figura 4.5. Influencia de la aplicación de 1.2 y 2.0 kg ha ⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la floración sobre la fotosíntesis neta del fruto del manzano cv. Gala Buckeye® injertado sobre patrón M9 Pajam 2. Fecha de tratamiento, 19 de abril. Cada valor es la media de 4 árboles y un fruto por árbol. Las barras verticales indican el ES. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas (P< 0.05).	20
Figura 4.6. Influencia de la dosis de metamitrona (Brevis®) aplicada 12 d después de la plena floración sobre la abscisión de frutos del manzano Gala Buckeye®. Cada valor es la media de 4 árboles. Fecha de tratamientos, 19 de abril. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas (P< 0.05).	20
Figura 4.7 Influencia de la aplicación de 2.0 kg ha ⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 25 d después de la plena floración sobre la abscisión de frutos del manzano Gala Buckeye®. Cada valor es la	

media de 4 árboles. Tratamientos efectuados el 2 de mayo. * indica diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).....	21
Figura 4.8. Influencia de la dosis de metamitrona (Brevis®) aplicada 12 d después de la plena floración sobre la evolución del diámetro del fruto del manzano Gala Buckeye® durante la fase exponencial de crecimiento del fruto. Cada valor es la media de 4 árboles. Tratamientos efectuados el 19 de abril.....	22
Figura 4.9. Influencia de la dosis de metamitrona (Brevis®) aplicada 12 d después de la plena floración sobre la evolución del diámetro del fruto del manzano Gala Buckeye® durante la fase lineal de crecimiento del fruto. Cada valor es la media de 4 árboles. Tratamientos efectuados el 19 de abril. En algún caso el ES es inferior al tamaño de los símbolos. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).	22
Figura 4.10. Influencia de la aplicación de 2.0 kg ha^{-1} de metamitrona (Brevis®) 25 d después de la plena floración sobre la evolución del diámetro del fruto del manzano Gala Buckeye®. Cada valor es la media de 4 árboles. Fecha de aplicación, 2 de mayo. El ES es más pequeño que el tamaño de los símbolos. * indica diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).	23
Figura 4.11. Influencia de la aplicación de 1.2 (verde) y 2.0 kg ha^{-1} (rojo) de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la plena floración y de 2.0 kg ha^{-1} (naranja) 25 d después de la plena floración sobre el incremento en el tamaño del fruto respecto del control 40 d después del tratamiento. Fecha de aplicación, 19 de abril. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).....	24
Figura 4.12. Evolución del diámetro de los frutos más grandes del corimbo (King fruit) del manzano Gala Buckeye® tratados con 1.2 y 2.0 kg ha^{-1} de metamitrona (Brevis®) 12 d (A) ó 25 d (B) después de la plena floración. Fechas de aplicación, 19 de abril y 2 de mayo, respectivamente. Cada valor es la media de 4 árboles. * indica diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).	25
Figura 4.13. Influencia de la aplicación de 1.2 (verde) y 2.0 kg ha^{-1} (rojo) de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la plena floración y de 2.0 kg ha^{-1} (naranja) 25 d después de la plena floración sobre el incremento en el tamaño de los frutos más grandes del corimbo (King fruit) respecto del control 40 d después del tratamiento. Fecha de aplicación, 19 de abril. Fechas de aplicación, 19 de abril y 2 de mayo, respectivamente. Cada valor es la media de 4 árboles. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).....	26

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 3.1. Identificación de cada uno de los frutos del corimbo con cintas de diferentes colores. En cada experimento se marcaron 24 corimbos diferentes para cada uno de los tratamientos.....	12
Imagen 3.2. Medición del diámetro de los frutos con un calibre digital.	13
Imagen 3.3. Medición de los parámetros fotosintéticos de las hojas con el LI-6400.....	14

1 INTRODUCCIÓN

1.1 ORÍGEN

El manzano, *Malus domestica* Borkh., es uno de los cultivos más importantes y extendidos en las regiones templadas. El fruto más parecido a las manzanas domésticas existentes en la actualidad apareció en el Cercano Oriente hace unos 4.000 años, en un momento que coincide con los primeros usos registrados de injertos (Zohary y Hopf, 2000).

La especie silvestre *Malus sieversii* (Ldb.) Roem, procedente de Asia Central, ha sido identificada como el principal contribuyente al acervo genético de *M. domestica*, basándose en similitudes en la morfología de árboles y frutas, así como en datos genéticos (Robinson et al., 2001; Harris et al., 2002; Coart et al., 2006; Velasco, 2010).

Debido a la gran diversidad intraespecífica de las manzanas silvestres, se ha determinado que el área geográfica en la que se domesticó se encuentra entre las montañas Tian Shan (en el límite entre China occidental y la antigua Unión Soviética), y el borde del Mar Caspio en Asia Central (Vavilov, 1926; Dzhangaliev, 2003).

1.2 DIFUSIÓN

Según Harris et al. (2002), a finales del Neolítico o principios de la Edad de Bronce las personas que recorrían la gran "Ruta de la Seda " llevaron las semillas de manzana silvestre desde Asia Central hacia el oeste. Posteriormente tanto los griegos como los romanos cultivaron la manzana, y como resultado de sus viajes e invasiones, se extendió a toda Europa y Asia. De esta forma, la *M. sieversii* de Asia Central pudo haber recibido una contribución genética significativa de *M. sylvestris*, *M. baccata* y *M. orientalis* (Zohary y Hopf, 2000; Juniper y Mabberley, 2006).

La manzana comercial es, por lo tanto, una especie con una historia compleja de hibridaciones interespecíficas e intraespecíficas. La propagación vegetativa a través del injerto ha jugado un papel importante en la preservación de la variabilidad genética y de los genotipos en manzanas domesticadas. Las contribuciones de varias especies silvestres al acervo genético de *M. domestica* resaltan la importancia de conservar estos recursos genéticos silvestres, ya que pueden contener genes importantes para la resistencia a enfermedades, la calidad del fruto y la

adaptabilidad, factores importantes en la mejora de la manzana domesticada (Aijaz y Jahangir, 2015).

1.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA DE LA MANZANA EN LA UE

El árbol frutal más común en Europa es el manzano, el cual cubre el 35% (523.000 ha) de la superficie total dedicada al cultivo de frutales. En 2016 la UE-28 produjo 12.6 millones de toneladas de manzanas. Las manzanas se producen en casi todos los Estados miembros de la UE, aunque Polonia (28.7%), Italia (19.5%) y Francia (14.5%) fueron, con diferencia, los mayores productores (Agriculture, Forestry and Fishery Statistics. Publications Office of the European Union, 2017).

En 2016, las manzanas para consumo en fresco se valoraron en 4.1 mil millones de €, lo que representa casi una quinta parte (19.1%) del valor de la producción de fruta de la UE-28 (Cicco, 2018).

El 62.5% del valor de la producción de manzanas frescas a precio básico fue dominado por tan solo cuatro países miembro de la Unión Europea en el año 2014. Estos fueron: Francia (20.1 %), Italia (17.1 %), Polonia (12.7 %) y Alemania (12.6 %).

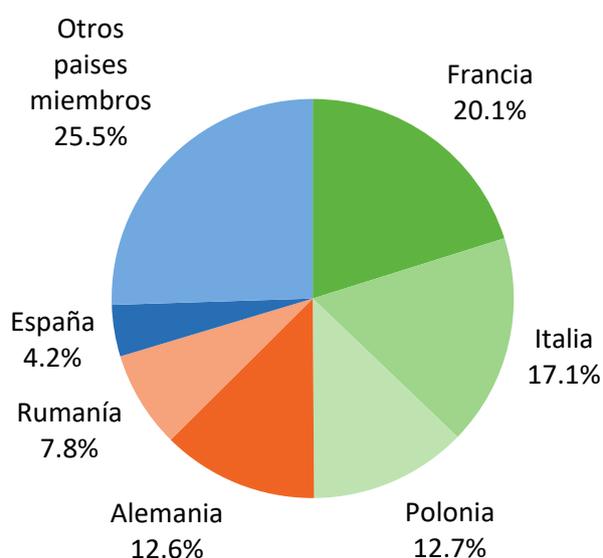


Figura 1.1. Valor de la producción de manzanas frescas a precio básico de los principales Estados Miembros de la UE en 2014.

Entre las frutas y hortalizas más exportadas en el 2018 se encuentran las manzanas (21.9%), exportadas principalmente a Bielorrusia (16.4%) y Egipto (13.3%). Entre los Estados Miembros, Holanda y España fueron los principales exportadores (22.7% y 21.4%, respectivamente), seguidos de Italia (18.0%). Comparativamente, una cuarta parte del valor de exportación de España fue generado por los cítricos (25.8%), mientras que en Italia, las manzanas fueron las frutas que más exportaron (39.9%) (Cicco, 2018).

1.4 IMPORTANCIA DEL CONTROL DE CULTIVOS EN LOS CULTIVOS DE FRUTO: ACLAREO.

Un árbol con muchos frutos produce frutos más pequeños con peor calidad en términos de contenido en sólido soluble totales (TSS), acidez, firmeza y sobrecoloración que un árbol con pocos frutos (Greene et al., 1989). Dado que éstas son las principales características de interés para el mercado de fruta fresca, el agricultor tendrá que centrar sus esfuerzos en satisfacer estas demandas del mercado con el fin de producir fruta de alta calidad y con máximos rendimientos (Link, 2000).

De todos los factores que influyen en el tamaño de la fruta, el número de frutos es el más importante, y una eliminación temprana de la fruta provoca un mayor tamaño final (Forshey, 1976). Por tanto, de entre las prácticas de cultivo, el aclareo de flores o frutos es la que mayor incidencia tiene sobre la calidad de la cosecha (Wertheim, 1998). Esto se debe a que, como resultado de la reducción del número de frutos por árbol, aumenta la cantidad relativa de superficie foliar por fruto y, por lo tanto, la disponibilidad de fotoasimilados y agua para los frutos que permanecen en el árbol. Esto también mejora la inducción de las yemas y la floración del año siguiente, siendo vital para superar la alternancia de cosechas que sufren algunos cultivares de manzano, dando lugar a rendimientos anuales más consistentes (Monselise y Goldshmidt, 1982).

1.5 ACLAREO DEL MANZANO

La mayoría de los cultivares de manzano tienen una densidad floral muy abundante y un porcentaje de frutos que cuajan muy alto. Es por ello que las técnicas de cultivo destinadas a regular el número de flores o frutitos son necesarias para mejorar la calidad de la fruta y superar

la alternancia de cosechas (Meland, 2009). Por lo tanto, el aclareo de la fruta es esencial para mantener una rentabilidad anual en el cultivo de manzanas (Robinson, 2011).

El tamaño potencial de una determinada manzana se determina a principios de su desarrollo y el crecimiento tiene lugar a un ritmo relativamente uniforme a partir de entonces (Elfving y Forshey, 1977). Esta tasa de crecimiento uniforme permite la predicción precisa del tamaño de la fruta a mediados de verano, ya que, una vez establecida, ésta no se altera fácilmente. De acuerdo con ello, el número de frutos sólo puede afectar a su tamaño dentro de unos límites definidos, y la mayor eficacia del aclareo se da cuando se lleva a cabo al inicio de su desarrollo (Batjer et al., 1957).

De acuerdo con esto, Tukey (1970) afirmó que *"el aclareo no cambia un fruto potencialmente pequeño en uno grande, sino más bien asegura que un fruto potencialmente grande tenga un tamaño adecuado"*. Es decir, el efecto principal del aclareo en el tamaño del fruto es más a menudo una reducción del número de los frutos más pequeños que un aumento del tamaño de los que quedan (Elfving y Forshey, 1977).

El aclareo se puede llevar a cabo mecánica, química o manualmente, aunque esta última práctica es laboriosa y costosa. El aclareo mecánico, aunque se ha mostrado eficaz en algunas especies, tiene el inconveniente de dañar el fruto de algunas especies, entre las que se encuentra el manzano. Y el aclareo químico es prometedor, porque es una operación rápida y permite aclarar flores y frutos en el momento adecuado, garantizando una mejor calidad de las frutas y reduciendo significativamente los costes de mano de obra en comparación con el aclareo manual (Costa et al., 2006), pero sigue siendo impredecible en la producción de manzana, a pesar de los muchos años de experiencia (Elfving y Forshey, 1977), ya que tiene grandes variaciones de un año a otro, e incluso en el mismo año, debido a los siguientes factores:

La exposición a la luz, puesto que en la madera fuertemente sombreada, ya sea en ramas inferiores que han sido sobredimensionadas por las copas, o en el interior de árboles densos, inadecuadamente podados, puede provocar un excesivo aclareo de frutos (Forshey, 1976).

La cantidad de flores que hay en el árbol, ya que ésta afecta a la respuesta del aclareo. Así, las variedades fuertemente alternantes se aclaran más fácilmente en el año OFF (con poca carga de frutos) que en el año ON (con mucha carga de frutos) (Forshey, 1976).

Los árboles jóvenes se aclaran más fácilmente que los árboles viejos con hábitos de alternancia bien establecidos.

El clima fresco y húmedo, ya sea antes o después de la aplicación, condiciona las hojas y aumenta la absorción química de todos los agentes aclarantes. La eficiencia de absorción está influida, en parte, por el estado fisiológico de la planta, y particularmente por la cutícula que se considera una barrera importante para la absorción (Williams y Edgerton, 1981). El grosor y la composición de la cutícula de la hoja se ven afectados por factores ambientales como la humedad relativa (Lee y Priestly, 1924).

La humedad del suelo también puede desempeñar un papel fundamental en la respuesta al aclareo químico. Por ejemplo, los déficits prolongados de humedad en el suelo pueden afectar al vigor de los árboles, al conjunto de frutos y a la respuesta al aclareo del año siguiente. Como consecuencia, una carencia de humedad suficientemente grave como para inducir el marchitamiento durante 2-3 semanas se reflejará en una mayor eficacia de los tratamientos de aclareo (Forshey, 1976).

Factores como la temperatura y la luz complican aún más el aclareo posterior a la floración. Por ejemplo, si predomina el clima frío y nublado durante el otoño, las reservas de carbohidratos pueden reducirse para la próxima primavera (Byers, 1999). Si las temperaturas son cálidas durante la floración, las reservas de carbohidratos se utilizan a un ritmo más rápido que si las temperaturas son frías y, por lo tanto, con menos reservas disponibles, el rendimiento puede reducirse (Hoying et al., 1998; Williams y Edgerton, 1981).

De acuerdo con ello, son muchos los factores que afectan a la respuesta de aclareo del manzano, y parece que los períodos de exceso o déficit de carbohidratos son vitales para la respuesta al aclareo químico aplicado después de la floración. Recientemente, los estudios han demostrado que los períodos de déficit de carbohidratos se asocian con períodos de alta eficacia del aclareo químico, mientras que los períodos de exceso de carbohidratos están correlacionados con una baja eficacia del aclareo químico. Parece que la mayor eficacia de aclareo se produce cuando el diámetro del fruto es de aproximadamente 10 - 20 mm, ya que es cuando las frutas están creciendo rápidamente y demandan grandes cantidades de carbono, de modo que cualquier escasez sostenida del mismo da lugar a la abscisión del fruto más débil.

Durante la caída de los pétalos, el riesgo de aclareo excesivo es bajo porque la fruta está creciendo lentamente y la escasez de carbono parece que implica un aclareo más moderado (Robinson, 2011).

Los aclarantes químicos se separan en dos categorías: los que actúan en la floración y los que lo hacen después de ésta. La eliminación temprana de la fruta potencial (aclareo de

flores) se utiliza, actualmente, para mejorar la floración del próximo año (Fallahi et al., 1997), al mismo tiempo que provoca una menor competencia por fotoasimilados entre las que permanecen en el árbol. Mientras tanto, la práctica del aclareo después de la floración se utiliza para regular la carga del árbol. La eliminación de los frutos 30 a 40 d después de la plena floración afecta únicamente a la cantidad de éstos (Williams, 1999). Por esta razón, el aclareo manual se utiliza para equilibrar la carga de los árboles y mejorar el tamaño de la fruta.

En resumen, el aclareo se aplica regularmente en el manzano con el fin de lograr un rendimiento regular y una calidad uniforme del fruto. La aplicación de productos químicos está justificada por tres razones: i) reducen el efecto bienal de la alternancia; ii) reducen la necesidad del aclareo manual costoso y iii) mejoran la calidad de los frutos que permanecen en el árbol (Vercamen, 1997). Esto último no siempre es cierto, ya que además de los efectos positivos, como el aumento de la masa seca (Pavicic y Paulic, 1989; Bound et al., 1993) y la reducción de la alternancia (Link, 2000; Vercamen, 1997), el aclareo químico, a veces, puede causar efectos adversos como un rendimiento reducido (Rogers y Williams, 1977; Byers y Carbaugh, 1991; Marini, 1996), un menor crecimiento del fruto (Jones et al., 1983), un aumento de la incidencia de *russeting* (Pavicic y Paulic, 1989; Bound et al., 1993), deformación del fruto (Rogers y Williams, 1977), y un color pobre del fruto (Byers y Carbaugh, 1991).

1.6 ACLAREO QUÍMICO DEL MANZANO CON METAMITRONA

Hasta hace muy poco, los agentes aclarantes disponibles en el mercado italiano y español eran tres: ácido naftalenacético (NAA), naftalenacetamida (NAD) y benziladenina (BA). Los dos primeros compuestos están involucrados en la formación de capas de abscisión y causan caída de frutos a través de la activación del etileno, que induce las enzimas hidrolíticas poligalacturonasa y celulasa (Abeles et al., 1992); también aumentan la respiración en la oscuridad y disminuyen la fotosíntesis (Bangerth, 2000). El otro compuesto utilizado para el aclareo es la citoquinina benziladenina (BA), que se ha demostrado que bloquea el desarrollo embrionario mediante reducciones severas en los niveles de carbohidratos; esto, a su vez, reduce el transporte polar de auxinas a través del pedúnculo de las frutas y mejora la sensibilidad al etileno de la zona de abscisión, lo que conduce a la caída de frutos (Botton et al., 2011).

Sin embargo, las citoquininas, a menudo, no satisfacen los objetivos de los agricultores debido a sus inconsistentes resultados y a los problemas relacionados con la formación de frutas muy pequeñas (Bukovac et al., 2008). Además, la retirada del mercado de la molécula 1-naftil

metilcarbamato (carbaril), en 2008, ha contribuido a aumentar el interés de los agricultores por nuevas estrategias de aclareo del manzano durante los últimos años (McArtney et al., 2012).

El sombreado de árboles también se ha utilizado con fines aclarantes en Fruticultura. Éste puede crear una reducción temporal en el suministro de carbohidratos (Zibordi et al., 2009; McArtney et al., 2012) que acarrea una disminución de las reservas solubles de carbohidratos en el árbol y empeora su suministro a los frutos jóvenes en desarrollo (Byers y Carbaugh, 1991; Corelli-Grapadelli y Lakso, 1994; Zibordi et al., 2008). Como consecuencia, se fortalece la competencia entre diferentes sumideros e induce la abscisión de los frutos más débiles (Byers y Carbaugh, 1991; Byers et al., 1985; Byers et al., 1990).

No obstante, parece muy difícil aplicar sombreado artificial a gran escala en huertos comerciales, debido al coste adicional y al esfuerzo para los agricultores. En cambio, la aplicación foliar de inhibidores fotosintéticos podría ser una forma más inteligente de obtener la abscisión de frutos. Así es como varios estudios han demostrado el potencial de Brevis® (metamitrona 15% SG) utilizado como agente de aclareo de manzanas (Lafer, 2010; Deckers et al., 2010; Basak, 2011; Stern, 2014), siendo el cuarto producto más utilizado de entre los agentes de aclareo químico disponibles en los mercados italiano y español desde 2015.

La metamitrona es un herbicida a base de triazina, ampliamente utilizado para el control de malas hierbas de hoja ancha en la remolacha azucarera, y que se aplica tanto en pre-emergencia como en post-emergencia. Es un inhibidor del fotosistema II (PSII) que se transporta vía xilema. Su presencia bloquea la transferencia de electrones entre las quinonas primarias y secundarias del PSII (Govindjee et al., 1997; Hess, 2000; Ikeda et al., 2003). La interrupción del transporte fotosintético de electrones inhibe la producción de ATP y la fijación de carbono. Si esta interrupción es permanente las plantas mueren a causa de la peroxidación lipídica y la proteólisis, así como por la disociación de los complejos proteico-pigmentario del PSII como resultado del estrés oxidativo inducido por la luz (Abbaspoor et al., 2006).

La metamitrona aplicada vía foliar interrumpe la fotosíntesis de 7 - 10 d después de la aplicación. Es considerablemente más rápido que con los productos tradicionales, reduciendo las tasas de transporte de electrones hasta en un 60% dependiendo de la dosis. Cuando se utiliza la dosis máxima (2.2 kg ha⁻¹), el efecto aclarante es casi el doble que el de otros productos utilizados con el mismo fin (Mcartney y Obermiller, 2012).

La tasa fotosintética vuelve a alcanzar niveles máximos después de aproximadamente 40 d, aparentemente cuando no hay más presencia del producto en el árbol. Cabe señalar que

sólo las hojas que están completamente desarrolladas en el momento de la aplicación sufrirán la inhibición fotosintética, por lo que aquellas hojas que se desarrollen después del tratamiento no se verán afectadas por la influencia del Brevis® (Brunner, 2015).

Este producto presenta actividad aclarante cuando las manzanas tienen de 10 a 12 mm de diámetro (Lafer, 2010; Basak, 2011) o incluso más tarde, con 20 mm (Mcartney y Obermiller, 2012). Como consecuencia de la reducción de la competencia entre frutos, los carbohidratos van mayoritariamente a los brotes en lugar de a los frutos, pero en el caso de ir a éstos generalmente van a los frutos *King*, o sea, a los más grandes y dominantes del corimbo.

Las condiciones climáticas en el momento de la pulverización, y en los días posteriores, también influyen en la eficacia de Brevis®. Temperaturas en torno a los 20°C en combinación con una alta HR y ausencia de viento, promueven una absorción eficaz del producto. La cantidad de radiación fotosintética activa después de la aplicación indirectamente influye en el efecto de aclareo del Brevis®. El efecto del Brevis® aumenta si el nivel de carbohidratos en la planta es bajo, por ejemplo, debido a la reducción de la radiación (clima nublado, mallas anti-granizo, etc.), pero también debido a las altas temperaturas nocturnas (los asimilados producidos durante el día se consumen por la noche en la respiración). Por estas razones, se asume que la misma concentración de Brevis® aplicada en campos situados a baja altitud (por ejemplo, 200 msnm) es más eficaz que cuando se aplica en regiones de mayor altitud (por ejemplo, 900 msnm) (Brunner, 2015).

Experimentos recientes indican que el aumento del peso medio del fruto, así como la disminución de la carga de frutos, es proporcional al aumento de la concentración de metamitrona aplicada (Greene, 2014; Stern, 2014). Sin embargo, dependiendo de la concentración y del estado fenológico de la flor/fruto en el momento de su aplicación puede provocar una caída excesiva de frutos (Mcartney y Obermiller, 2014).

En resumen, la metamitrona o 4-amino-3-metil-6-fenil-1,2,4-triazin-5(4H)-ona, es un compuesto que pertenece a la familia de las triazonas, con un pm de 202.21, soluble en agua a pH 5 – 7, cristalino y de color amarillento-beige, y que está catalogado como herbicida inhibidor de la fotosíntesis.

Este tipo de sustancias herbicidas se han utilizado a concentraciones compatibles con efectos no fitotóxicos para promover la abscisión de frutos, con el fin de reducir la competencia entre ellos y mejorar su tamaño final. En términos agronómicos esta técnica recibe el nombre

de *aclareo químico de frutos*, y en este Trabajo Final de Máster la metamitrona se utiliza con este fin en el manzano.

2 OBJETIVOS

Este trabajo tiene como objetivo la investigación del efecto del Brevis[®], una formulación comercial de la metamitrona, en el aclareo químico del manzano para aumentar su tamaño. Paralelamente, y para justificar su acción, se estudian también algunos parámetros fisiológicos clave, como la fotosíntesis neta de las hojas (P_n , $m^{-2} s^{-1}$). En particular, el trabajo describe los efectos fisiológicos de las aplicaciones de Brevis[®] a diferentes concentraciones en el manzano cv. Gala (Buckeye[®]).

3 MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en el 2017 en una parcela experimental de la Universidad de Bolonia, en Cadriano, Italia, en un huerto de manzanos (*Malus domestica* Borkh.), cv. Gala (Buckeye®), injertado sobre M9 Pajam 2. Los árboles fueron plantados en 2014, orientados Norte-Sur, con un marco de plantación de 3,3 x 1m, con una densidad de 3.300 árboles ha⁻¹ y formados en slender-spindle. El suelo es franco y se encuentra en un ambiente templado, con estaciones lluviosas en primavera y otoño y una precipitación media anual de 600-700 mm.

Se seleccionaron árboles homogéneos en intensidad de floración, en tres filas consecutivas, y se establecieron dos experimentos que diferían entre sí por el momento de la aplicación de la metamitrona (Brevis®).

Se diseñaron dos experimentos de bloques al azar. En el primer experimento, los tratamientos difirieron por la dosis de producto aplicado: 0 kg ha⁻¹ (T0 o control), 1.2 kg ha⁻¹ (T1) y 2.0 kg ha⁻¹ (T2). En el segundo experimento, se aplicaron 2.0 kg ha⁻¹ al inicio del crecimiento lineal del fruto (T3) utilizando árboles no tratados como árboles de control (T0). En ambos casos se utilizaron 4 árboles por tratamiento seleccionados aleatoriamente, pero dentro de la misma parcela y en líneas consecutivas.

El primer tratamiento con Brevis® se realizó el 19 de abril [12 d después de la plena floración (DAFB)], cuando el diámetro medio de la fruta era de 8.7 mm (experimento 1). En un experimento separado, se aplicó el 2 de mayo (25 DAFB) cuando el diámetro medio de los frutos era de 16.3 mm (experimento 2). Los tratamientos se aplicaron en parcelas totalmente protegidas y para ello se utilizó un turboatomizador manual.

De cada tratamiento se marcaron 24 corimbos distribuidos entre los 4 árboles (6 corimbos por árbol). Periódicamente se midió el diámetro del fruto, la caída de frutos, y el intercambio gaseoso (CO₂) de las hojas y de los frutos.

3.1 CRECIMIENTO Y CAÍDA DE FRUTOS

El crecimiento y la caída de frutos se determinaron mediante el seguimiento de 6 corimbos por planta, cada uno de los cuales contenía 5 frutos al inicio de la toma de datos. Al inicio del experimento se marcaron debidamente los corimbos a seguir (Imagen 3.1).



Imagen 3.1. Identificación de cada uno de los frutos del corimbo con cintas de diferentes colores. En cada experimento se marcaron 24 corimbos diferentes para cada uno de los tratamientos.

El diámetro del fruto se midió en 10 d distintos, del 10 de abril al 29 de mayo, utilizando un calibre digital equipado con una tarjeta de memoria para grabar datos (Imagen 3.2.).

La caída de frutos se determinó contando los frutos caídos de los corimbos, previamente identificados, en las mismas fechas en las que se llevó a cabo la medición de los diámetros.



Imagen 3.2. Medición del diámetro de los frutos con un calibre digital.

3.2 INTERCAMBIO GASEOSO DE LAS HOJAS

La fotosíntesis neta de las hojas (P_n , $m^{-2} s^{-1}$), se midió utilizando un sistema portátil de intercambio de gas infrarrojo de circuito abierto equipado con una fuente de luz LED (LI-COR 6400XT, LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA) (Imagen 3.3.). Se midieron las hojas maduras de lamburdas, tomando una hoja por árbol y 4 árboles por tratamiento. Las mediciones del experimento 1 se llevaron a cabo en 5 d diferentes, entre el 21 de abril y 3 de mayo, y las del experimento 2 los d 3, 5 y 12 de mayo, todas ellas siempre a la misma hora, las 11:00 am, con el fin de evitar fluctuaciones climáticas (Morandi et al., 2014).

Durante cada medición, la intensidad de la luz dentro de la cámara se mantuvo constante en el nivel de PAR experimentado por las hojas inmediatamente antes de las mediciones.



Imagen 3.3. Medición de los parámetros fotosintéticos de las hojas con el LI-6400.

3.3 INTERCAMBIO GASEOSO DE LOS FRUTOS

Para evaluar el posible efecto de la metamitrona en el intercambio gaseoso de los frutos, se midió la fotosíntesis neta (P_n , $m^{-2} s^{-1}$) y la respiración de 4 frutos por tratamiento, en diferentes árboles, a las 11:00 h de la mañana, utilizando un sistema portátil de intercambio de gas infrarrojo de circuito abierto equipado con una fuente de luz LED (Li-COR 6400XT, LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA).

En el experimento 1, las mediciones se realizaron los días 20, 21 y 24 de abril, y el 5 de mayo, utilizando 1 fruto por cada uno de los 12 árboles tratados. El 5 de mayo se midieron los intercambios gaseosos de los frutos en los árboles del segundo experimento, siguiendo el mismo patrón.

Durante cada medición, la fotosíntesis neta de los frutos fue medida a plena luz. Inmediatamente después de la medición, la cámara se cubrió con un tejido negro, se esperó al menos 3 minutos para el equilibrio y, después, se tomaron los datos de la respiración en la oscuridad.

3.4 ANALISIS ESTADÍSTICO

A los resultados se les aplicó el análisis de la varianza, utilizando el test de Newman-Keuls para la separación de medias. Cuando fue necesario se aplicó la transformación $\arcsin \sqrt{p}$ para normalizar la muestra. Se utilizó el STATGRAPHICS Centurion Software (Statistical Graphics, Englewood Cliffs, NJ, USA).

4 RESULTADOS

4.1 INTERCAMBIO GASEOSO DE LAS HOJAS

En el experimento 1, la actividad fotosintética de las hojas de los árboles tratados con 1.2 y 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la floración disminuyó a los 3 d del tratamiento. Las hojas que recibieron la dosis más baja alcanzaron los valores más altos de tasa fotosintética a los 12 d del tratamiento, mientras que las que habían recibido la dosis más alta no consiguieron restituir la pérdida fotosintética durante el periodo estudiado (Figura 4.1).

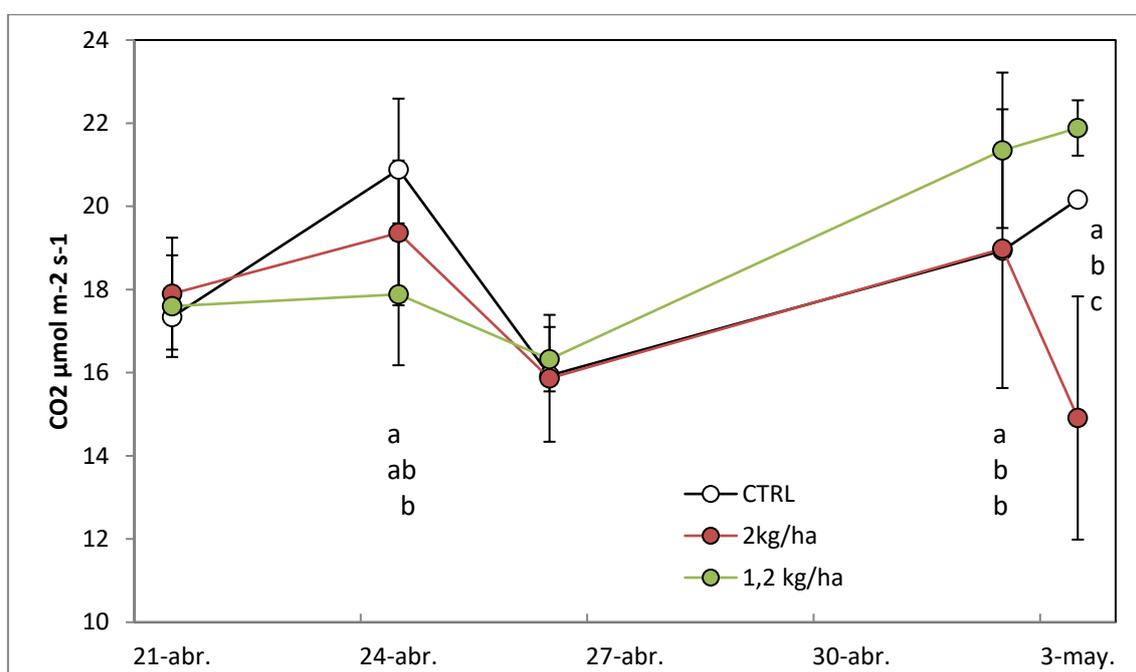


Figura 4.1. Influencia de la aplicación de 1.2 y 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la floración sobre la actividad fotosintética de hojas de lamburdas del manzano cv. Gala Buckeye® injertado sobre patrón M9 Pajam 2. Fecha de tratamiento, 19 de abril. Cada valor es la media de 4 árboles y una hoja por árbol. Las barras verticales indican el ES. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Sin embargo, los árboles tratados con 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona el 2 de mayo, esto es, al inicio de la fase de engrosamiento celular, consiguieron revertir la evolución de la fotosíntesis neta y 3 d después de efectuado ya no existían diferencias significativas entre los árboles control y tratados (Figura 4.2). Una semana después la situación se había invertido y los árboles tratados ya presentaban una fotosíntesis neta superior a la de los controles, aunque sin alcanzar la significación estadística.

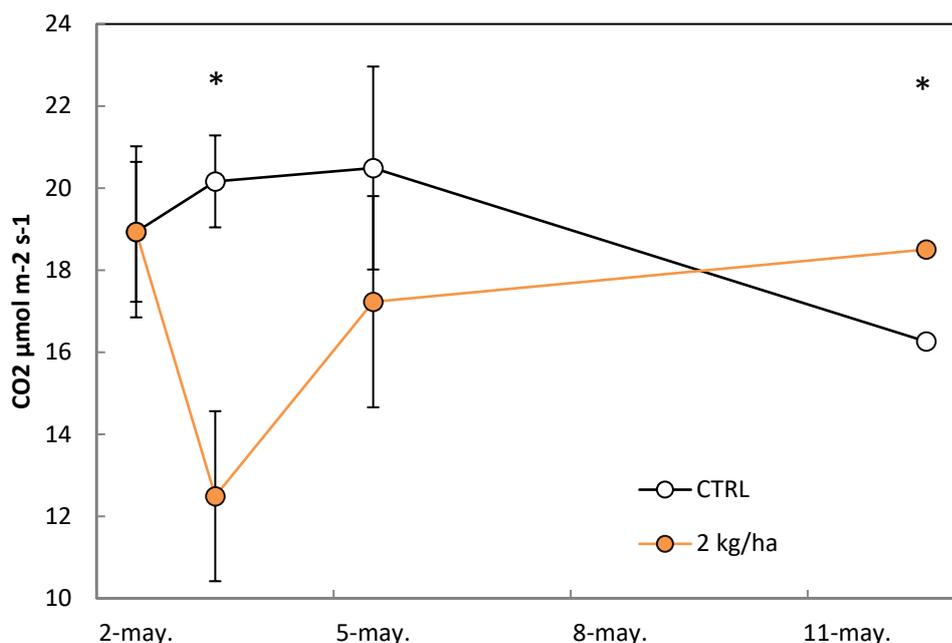


Figura 4.2. Influencia de la aplicación de 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 25 d después de la floración sobre la actividad fotosintética de hojas de lamburdas del manzano cv. Gala Buckeye® injertado sobre patrón M9 Pajam 2. Fecha de tratamiento, 2 de mayo. Cada valor es la media de 4 árboles y una hoja por árbol. Las barras verticales indican ES. * indica diferencia estadísticamente significativa (P < 0.05).

4.2 INTERCAMBIO GASEOSO DE LOS FRUTOS

La aplicación de 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la floración aumentó la fotorrespiración del fruto respecto del control (Figura 4.3) cuando ésta se midió a la luz. Dos días después del tratamiento este aumento había alcanzado el 62%, pero con el tiempo se igualó con los valores del control y 3 d más tarde se habían perdido las diferencias.

La aplicación de 1.2 kg ha⁻¹ siguió una pauta distinta y no fué hasta 5 d después del tratamiento que se observaron las diferencias, pero en este caso el valor de la fotorrespiración del fruto tratado fue un 40% inferior al de los frutos sin tratar (Figura 4.3).

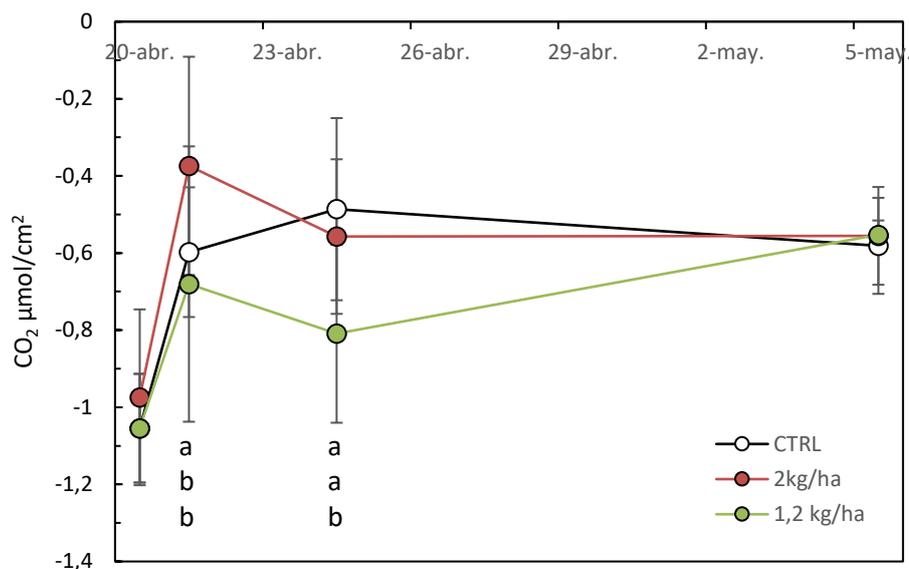


Figura 4.3. Influencia de la aplicación de 1.2 y 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la floración sobre la fotorrespiración a la luz del fruto del manzano cv. Gala Buckeye® injertado sobre patrón M9 Pajam 2. Fecha de tratamiento, 19 de abril. Cada valor es la media de 4 árboles y un fruto por árbol. Las barras verticales indican el ES. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

En la oscuridad, la aplicación de 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona siguió una pauta similar, aunque cuantitativamente menos importante. Así, a los 3 d del tratamiento, la fotorrespiración de los frutos tratados era casi un 20% superior a la de los control, disminuyendo a los 3 d siguientes por debajo de estos, pero sin alcanzar la significación estadística y manteniéndose con valores similares hasta el final del experimento (Figura 4.4).

La aplicación de 1.2 kg ha⁻¹ también siguió una pauta similar a las condiciones de luz, de modo que 5 d después del tratamiento la fotorrespiración de los frutos tratados era un 27% inferior a la de los frutos sin tratar (Figura 4.4).

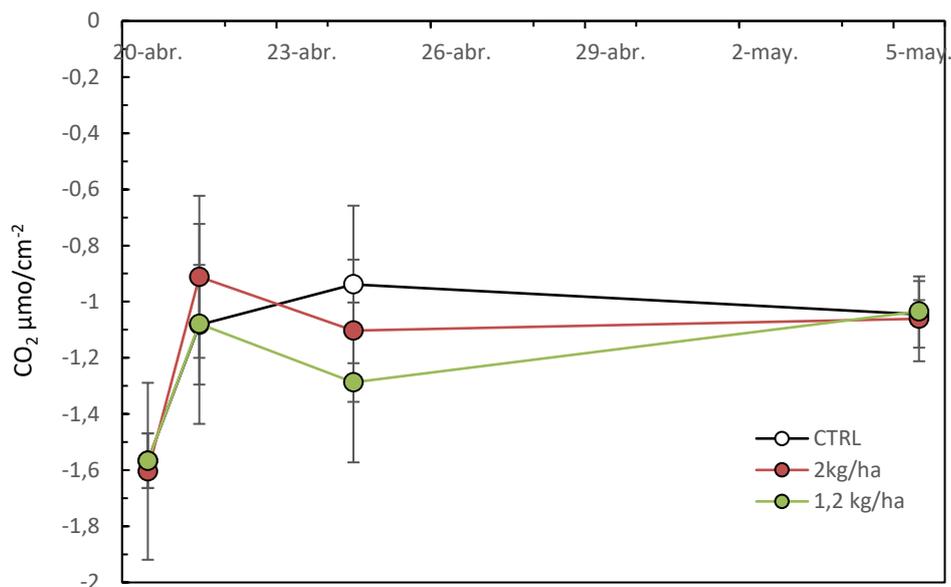


Figura 4.4. Influencia de la aplicación de 1.2 y 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la floración sobre la fotorrespiración a la oscuridad del fruto del manzano cv. Gala Buckeye® injertado sobre patrón M9 Pajam 2. Fecha de tratamiento, 19 de abril. Cada valor es la media de 4 árboles y un fruto por árbol. Las barras verticales indican el ES.

Como consecuencia, la fotosíntesis neta de los frutos tratados con 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona (Brevis®) aumentó a lo largo de todo el periodo de estudio, mientras que la de los frutos tratados con 1.2 kg ha⁻¹ disminuyó a los 5 d del tratamiento para aumentar a continuación e igualarse con la de los frutos tratados con 2.0 kg ha⁻¹ y la de los frutos control sin tratar (Figura 4. 5).

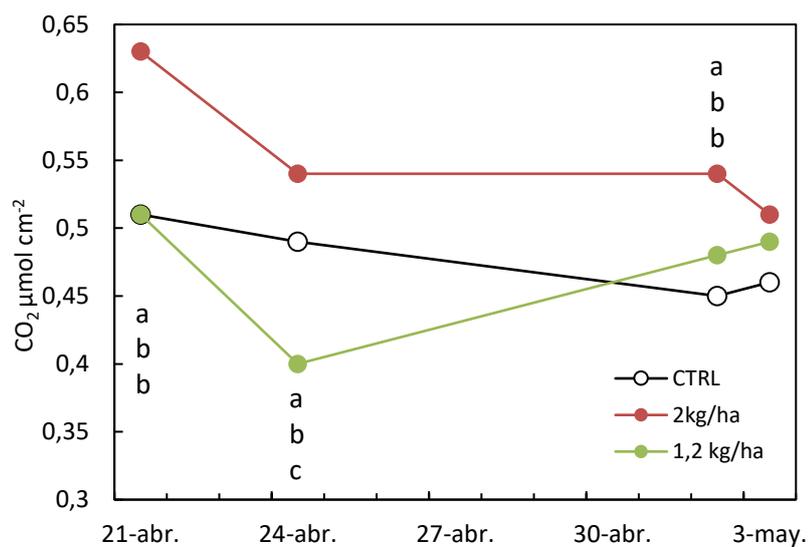


Figura 4.5. Influencia de la aplicación de 1.2 y 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la floración sobre la fotosíntesis neta del fruto del manzano cv. Gala Buckeye® injertado sobre patrón M9 Pajam 2. Fecha de tratamiento, 19 de abril. Cada valor es la media de 4 árboles y un fruto por árbol. Las barras verticales indican el ES. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas (P< 0.05).

4.3 CRECIMIENTO Y CAÍDA DE FRUTOS

La aplicación de 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona 12 d después de la plena floración provocó la abscisión del 76 % de los frutos (Figura 4.6). Este efecto no fue estadísticamente distinto del conseguido con la aplicación de 1.2 kg ha⁻¹ que provocó la caída del 77 % de los frutos. Sin embargo, esta en los árboles control alcanzó el 67 % de los frutos, valor significativamente inferior al logrado con ambas dosis de metamitrona.

Lo que resulta de interés es que la abscisión de los frutos tratados se anticipó respecto de los controles con independencia de la dosis aplicada, si bien los tratados con 1.2 kg ha⁻¹ lo hicieron en mayor cuantía (Figura 4.6). Posteriormente, tendió a igualarse entre tratamientos y no fue hasta el 16 de mayo, 27 d después del tratamiento, que los frutos tratados cayeron en mayor proporción (Figura 4. 6).

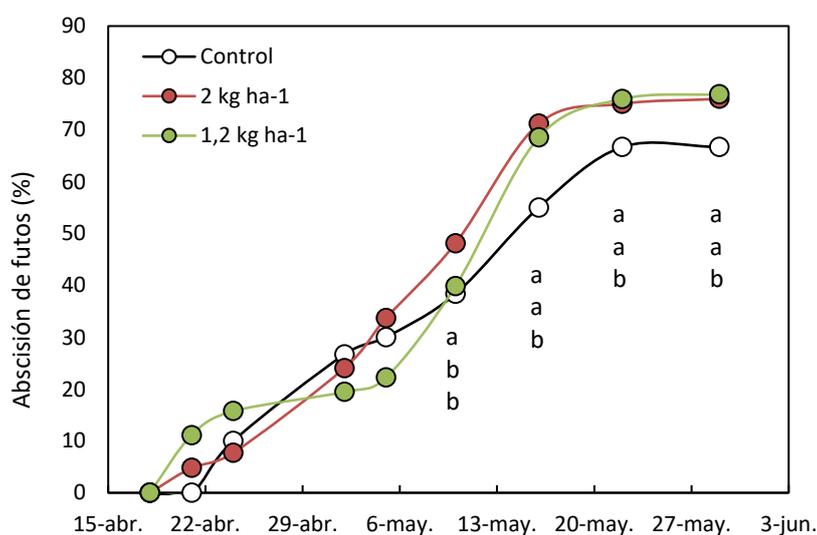


Figura 4.6. Influencia de la dosis de metamitrona (Brevis®) aplicada 12 d después de la plena floración sobre la abscisión de frutos del manzano Gala Buckeye®. Cada valor es la media de 4 árboles. Fecha de

tratamientos, 19 de abril. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Cuando el tratamiento con 2.0 kg ha^{-1} se realizó 25 d después de la plena floración (2 de mayo), la cinética en la abscisión de frutos no se alteró durante los 3-5 d siguientes (Figura 4.7), en contraste con el efectuados a los 12 d de la plena floración (Figura 4.6.). Pero a los 15 d (16 de mayo) la caída se retrasó respecto del control, de modo que 5 d más tarde, a los 20 d de efectuado el tratamiento, mientras de los controles había caído el 55% de los frutos, de los tratados lo había hecho el 45%. A finales de mayo, sin embargo, no se encontró diferencia significativa entre ambos tratamientos (54% y 52% de frutos caídos, respectivamente) (Figura 4.7).

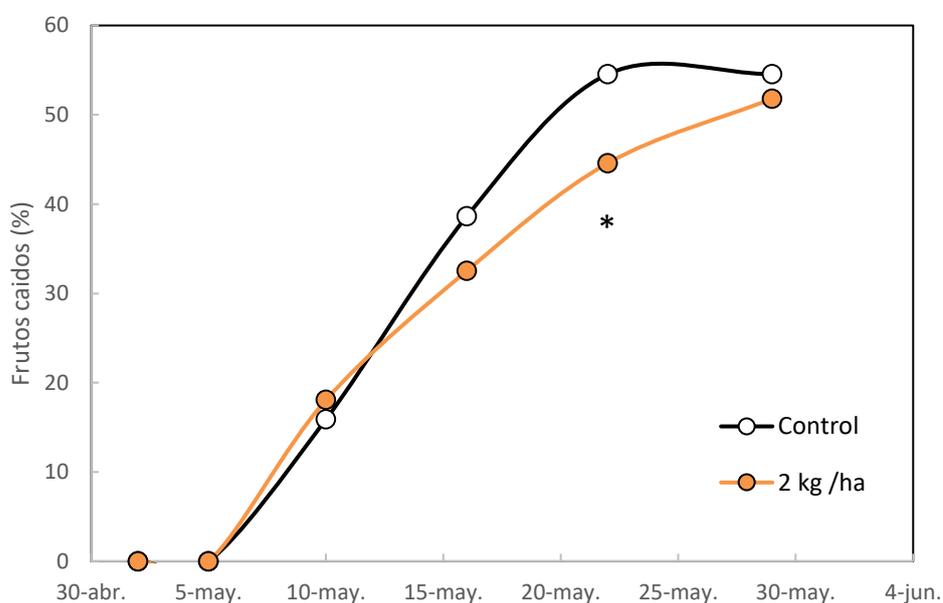


Figura 4.7 Influencia de la aplicación de 2.0 kg ha^{-1} de metamitrona (Brevis®) 25 d después de la plena floración sobre la abscisión de frutos del manzano Gala Buckeye®. Cada valor es la media de 4 árboles. Tratamientos efectuados el 2 de mayo. * indica diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).

El fruto de los árboles tratados con metamitrona (Brevis®) creció más deprisa que el de los árboles control sin tratar, de modo que 5 d después del tratamiento la diferencia ya alcanzaba 1.5 mm, y a los 15 d (5 de mayo) 2.4 mm en los tratados con 1.2 kg ha^{-1} (Figura 4.8). Pero a partir de esa fecha, cuando los frutos iniciaron la fase lineal del crecimiento, los frutos tratados con la dosis más baja iniciaron un crecimiento más rápido, y al final del experimento, 40 d después de la aplicación (29 de mayo) ambos tratamientos, 1.2 y 2.0 kg ha^{-1} , habían

conseguido un diámetro de fruto 3.0 y 3.2 mm superior, respectivamente, al de los frutos sin tratar (Figura 4.9).

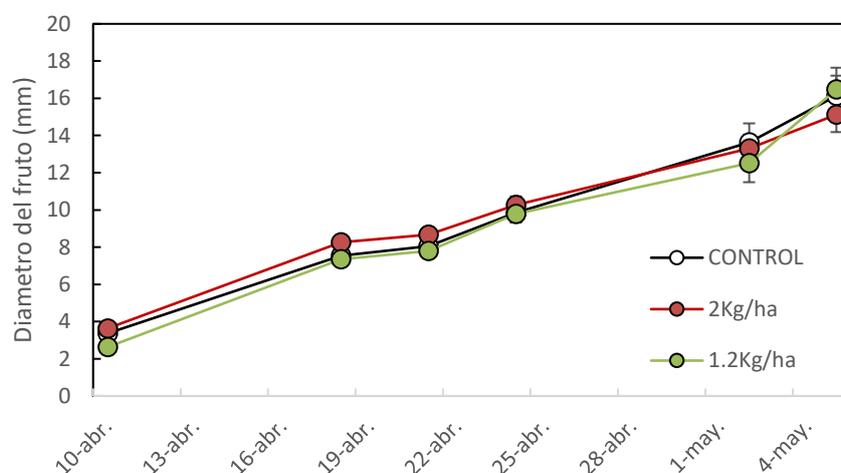


Figura 4.8. Influencia de la dosis de metamitrona (Brevis®) aplicada 12 d después de la plena floración sobre la evolución del diámetro del fruto del manzano Gala Buckeye® durante la fase exponencial de crecimiento del fruto. Cada valor es la media de 4 árboles. Tratamientos efectuados el 19 de abril.

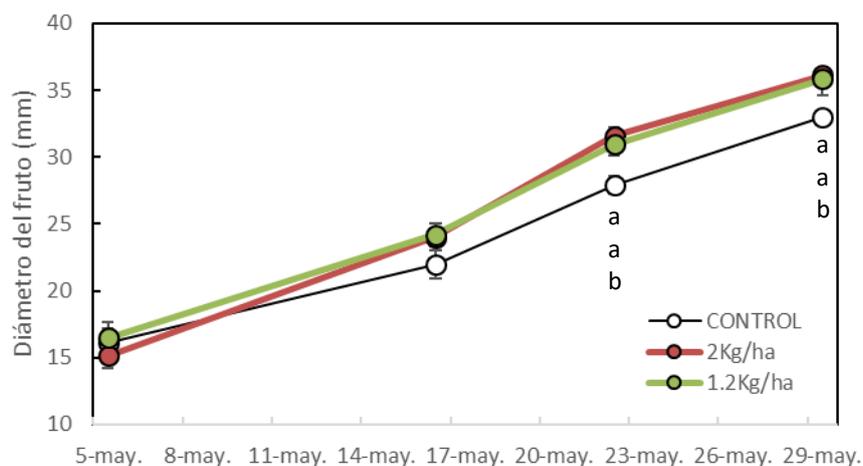


Figura 4.9. Influencia de la dosis de metamitrona (Brevis®) aplicada 12 d después de la plena floración sobre la evolución del diámetro del fruto del manzano Gala Buckeye® durante la fase lineal de crecimiento del fruto. Cada valor es la media de 4 árboles. Tratamientos efectuados el 19 de abril. En algún caso el ES es inferior al tamaño de los símbolos. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Estas diferencias establecidas al final del periodo de evaluación se correspondieron con un diámetro medio de 32.9 mm de los frutos de los árboles control, y de 35.9 y 36.1 mm de los frutos de los árboles tratados con 1.2 y 2.0 kg ha⁻¹, respectivamente (Figura 4.10). Ambos tratamientos no difirieron significativamente entre sí, pero sí del tratamiento control ($P < 0.05$).

Cuando la metamitrona, a una dosis de 2.0 kg ha⁻¹, se aplicó 25 d después de la plena floración, la respuesta fue inmediata, y 3 d después los frutos de los árboles tratados ya medían 1.4 mm más que los de los árboles control (Figura 4. 11). La diferencia se amplió con el tiempo y a los 8 d de tratamiento la diferencia era de 2.2 mm, y esta se mantuvo prácticamente constante hasta el final de las evaluaciones, momento en el que alcanzó los 2.6 mm (Figura 4.11).

Estas diferencias se correspondieron con un diámetro medio de 32.9 mm para los frutos control y de 35.5 para los tratados (Figura 4.12).

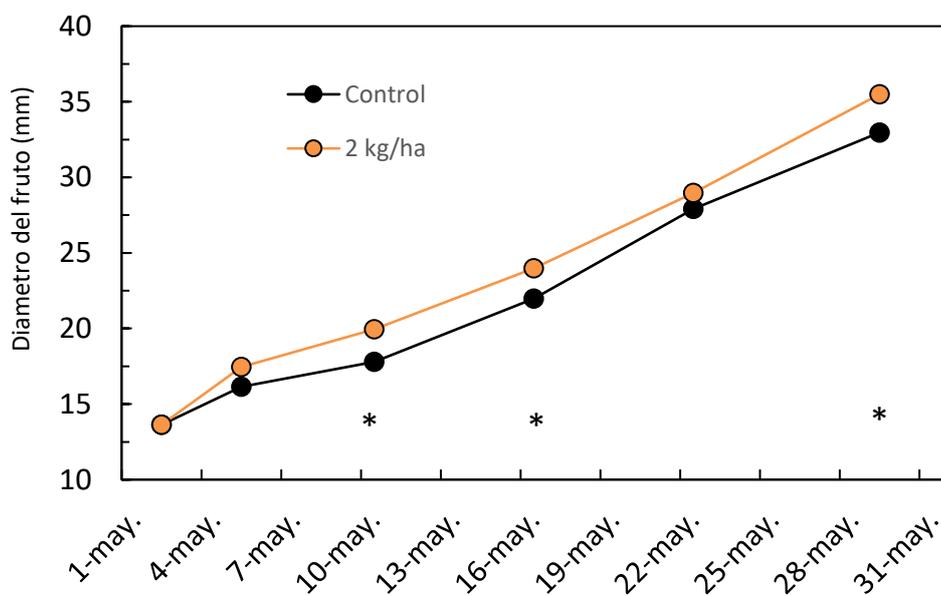


Figura 4.10. Influencia de la aplicación de 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 25 d después de la plena floración sobre la evolución del diámetro del fruto del manzano Gala Buckeye®. Cada valor es la media de 4 árboles. Fecha de aplicación, 2 de mayo. El ES es más pequeño que el tamaño de los símbolos. * indica diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).

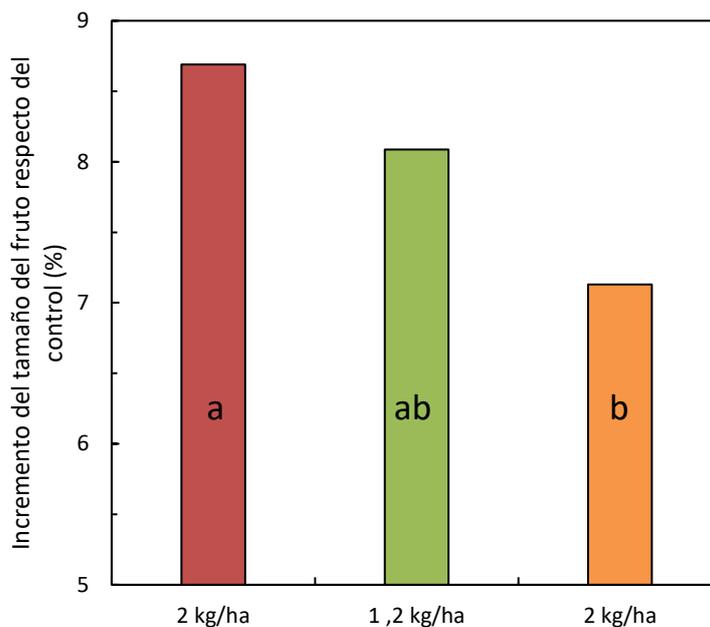


Figura 4.11. Influencia de la aplicación de 1.2 (verde) y 2.0 kg ha⁻¹ (rojo) de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la plena floración y de 2.0 kg ha⁻¹ (naranja) 25 d después de la plena floración sobre el incremento en el tamaño del fruto respecto del control 40 d después del tratamiento. Fecha de aplicación, 19 de abril. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa (P< 0.05).

Resulta de interés el efecto de la metamitrona sobre el fruto principal del corimbo o *King fruit*. La respuesta entre tratamientos es la misma, pero cuantitativamente mayor. Así, los frutos de los árboles tratados con 1.2 y 2.0 kg ha⁻¹ 12 d después de la plena floración alcanzaron 39.5 y 36.5 mm, 7.6 y 4.6 mm más que los de los árboles control, respectivamente (Figura 4.13 A). Y, asimismo, los tratados 25 d después de la floración con 2.0 kg ha⁻¹ alcanzaron 38.4 mm de diámetro, es decir, 6.5 mm más que los de los árboles sin tratar (Figura 4.13 B).

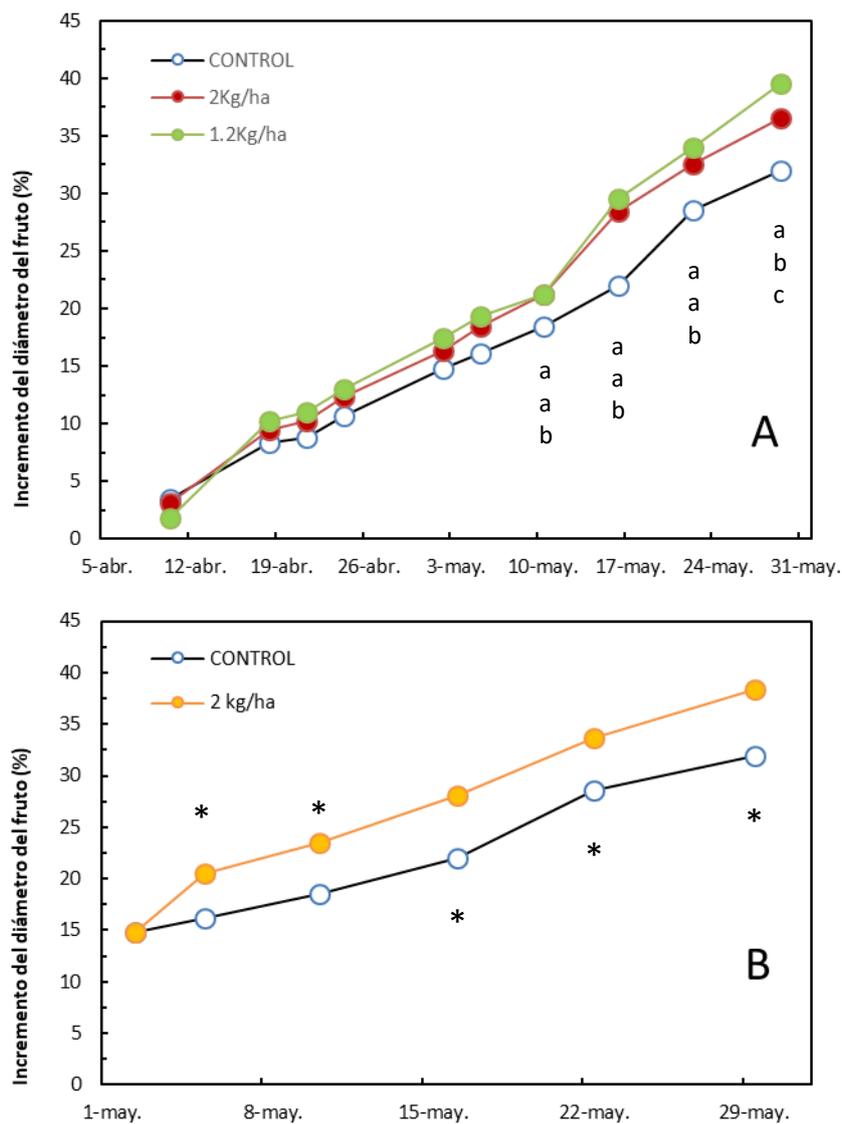


Figura 4.12. Evolución del diámetro de los frutos más grandes del corimbo (King fruit) del manzano Gala Buckeye® tratados con 1.2 y 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona (Brevis®) 12 d (A) ó 25 d (B) después de la plena floración. Fechas de aplicación, 19 de abril y 2 de mayo, respectivamente. Cada valor es la media de 4 árboles. * indica diferencia estadísticamente significativa (P< 0.05).

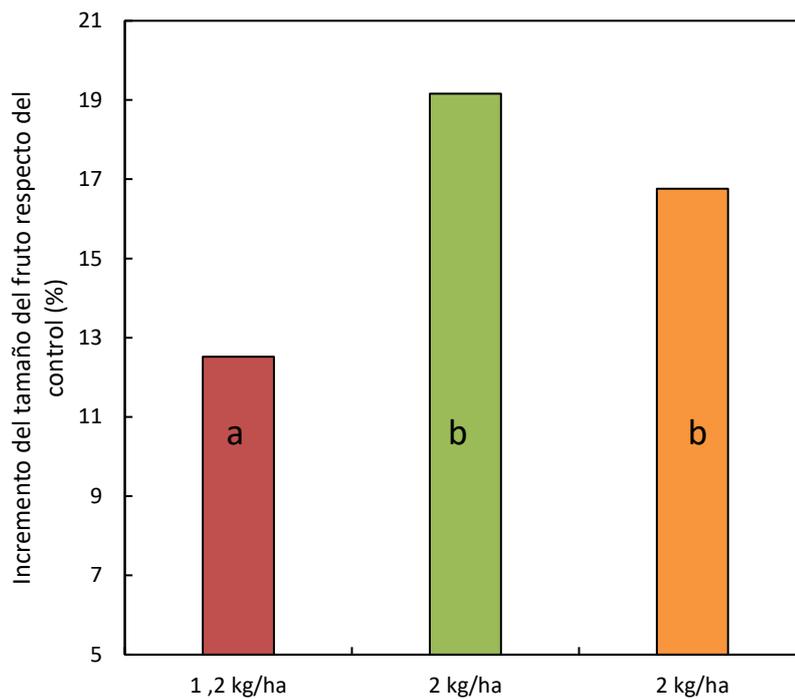


Figura 4.13. Influencia de la aplicación de 1.2 (verde) y 2.0 kg ha⁻¹ (rojo) de metamitrona (Brevis®) 12 d después de la plena floración y de 2.0 kg ha⁻¹ (naranja) 25 d después de la plena floración sobre el incremento en el tamaño de los frutos más grandes del corimbo (King fruit) respecto del control 40 d después del tratamiento. Fecha de aplicación, 19 de abril. Fechas de aplicación, 19 de abril y 2 de mayo, respectivamente. Cada valor es la media de 4 árboles. Letras distintas indican diferencia estadísticamente significativa (P < 0.05).

5. DISCUSIÓN

El tamaño del fruto es uno de los principales factores determinantes de su calidad. Éste depende de su capacidad de crecimiento y de la disponibilidad de nutrientes para satisfacerla. Así, la competencia entre frutos en desarrollo determina el tamaño final de la gran mayoría de las especies frutícolas leñosas. En efecto, la eliminación de parte de ellos consigue reducir dicha competencia y, con ello, aumentar su tamaño final. Este concepto avala nuestros resultados y el de otros autores en muchas especies frutícolas (Dennis, 2000), de modo que el aclareo manual de frutos es una práctica habitual en Fruticultura para lograr este fin. Sin embargo, para obtener resultados satisfactorios es necesario eliminar un elevado número de frutos, entre el 50-60% en los cítricos (Agustí et al., 1995), 75% en el melocotonero (Agustí et al., 1997), etc., y también en el manzano (Knight, 1980), lo que requiere un elevado gasto en mano de obra.

Con el fin de reducir estos costes de cultivo se ha desarrollado extraordinariamente la utilización de sustancias capaces de reducir el número de frutos químicamente. Pero la ausencia de capacidad de selección de los frutos de éstas, por una parte, y la dependencia de su eficacia según la especie/variedad, por otra, han hecho que no todas las especies en cultivo dispongan de sustancias adecuadas para ello. En el caso de las manzanas, las sustancias desarrolladas hasta hace 15-20 años (carbaril, ácido naftalenacético, benziladenina, ...) no han dado los resultados satisfactorios requeridos. Ello se debe a que la respuesta no es siempre general y si bien se obtienen buenos resultados para tratamientos cuando el fruto tiene un diámetro entre 6-10 mm, aproximadamente, el resultado final depende críticamente de la variedad (Goffinet et al, 1995; Petri et al, 2006; Ambrozic y Stopar, 2010). A esta dificultad se añade el que muchas de ellas están ya fuera de registro. En consecuencia, posteriormente se desarrollaron las auxinas de síntesis con esta finalidad (Agustí et al., 1994; 1995; 1999; El-Otmani et al., 1993; Forlani et al., 2010; Stern et al., 2007a; 2007b; Reig et al 2016).

Muchas de las sustancias utilizadas como aclarantes químicos tienen su acción a través de la inhibición de la fotosíntesis (Byers et al, 1990). En efecto, la acción de la metamitrona inhibiendo la fotosíntesis se ha estudiado en rosáceas, en particular en el manzano (McArtney et al., 2012), con resultados similares a los nuestros. Así, en nuestro experimento, su aplicación a las dosis de 1,2 ó 2.0 kg ha⁻¹ inhibe parcial y temporalmente la fijación de CO₂, independientemente de la fecha de aplicación. McArtney y Obermiller (2012; 2014) ya demostraron un efecto de la metamitrona en la reducción de la fluorescencia clorofílica, así como del ratio fluorescencia variable-fluorescencia máxima (Fv/Fm), del yield del PSII, y de la tasa relativa de transporte electrónico. Estos resultados coinciden con los de la acción del 3,5,6-TPA en los cítricos (Mesejo

et al., 2012), en el caqui (Agustí et al, 2004), y en el níspero japonés (Reig et al, 2016), y lo relevante es que ambas sustancias, metamitrona y 3,5,6-TPA, y en todas estas especies, provocan una reducción del aporte de carbohidratos al fruto y de su tasa de crecimiento y, en consecuencia, su abscisión, lo que ha quedado demostrado para el manzano en nuestro experimento. El efecto de las sustancias inhibidoras de la fotosíntesis en la abscisión de los frutos que inician el desarrollo parece, pues, una acción general de este tipo de sustancias en las especies frutícolas.

En este sentido, nuestro estudio de la fotorrespiración aporta un nuevo resultado relevante. La permanencia del fruto a la luz o la oscuridad conlleva un incremento de ésta para aplicaciones de 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona. El efecto, sin embargo, desaparece a los 4 d de haberse efectuado el tratamiento. La diferencia de la fotorrespiración a la luz y a la oscuridad indica la fijación neta de CO₂ por el fruto, y en este caso la de los frutos tratados con 2.0 kg ha⁻¹ es siempre superior a la de los frutos control. Esta mayor fotosíntesis neta de este fruto no indica, sin embargo, una mayor tasa fotosintética del mismo, sino que es la consecuencia de un menor transporte de carbohidratos desde las hojas, como consecuencia del efecto inhibitor de la metamitrona sobre la fotosíntesis, que se traduce en una reducción de la tasa respiratoria y que explica, a su vez, el efecto depresivo inicial en el crecimiento del fruto tratado. Cuando esto ocurre, la respiración del fruto disminuye hasta un punto tal que el CO₂ desprendido es menor que el fijado por la fotosíntesis y, en consecuencia, la fotosíntesis neta es mayor, explicando así nuestros resultados.

El efecto depresivo inicial en el desarrollo del fruto provocado por las sustancias inhibidoras de la fotosíntesis es temporal y el fruto lo supera entre los 6 y 8 d siguientes al tratamiento, como ocurre en nuestro experimento cuando se aplican 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona, efecto que no había sido puesto de manifiesto en el manzano hasta hoy. Esta recuperación de la tasa de crecimiento va seguida de un incremento significativo del crecimiento del fruto tratado respecto de la de los frutos control sin tratar y se mantiene hasta el final del desarrollo con independencia de la sustancia aplicada y la especie, como ocurre en nuestro experimento con la metamitrona en el manzano y en el que da lugar a incrementos en el tamaño del fruto entre el 7,1% y el 8,7%, dependiendo de la dosis aplicada y de la época del tratamiento.

Por otra parte, resulta de interés comprobar que cuando la metamitrona fue aplicada 25 d después de la plena floración, esto es, al inicio de la fase lineal del crecimiento del fruto, la abscisión de frutos se anticipó, pero no fue superior a la de los árboles sin tratar, y sin embargo

los frutos fueron de mayor tamaño. Esto indica un efecto directo de la metamitrona sobre el desarrollo del fruto que no había sido puesto de manifiesto con anterioridad en el manzano.

Este tipo de respuesta también es coincidente con la de algunas auxinas de síntesis capaces de interferir en la fotosíntesis. Éstas, cuando se aplican en el momento del cuajado provocan una caída masiva de frutos, pero cuando se aplican al inicio de la fase lineal del crecimiento consiguen aumentar su tamaño final sin alterar el número (Agustí et al., 1995), de un modo similar a como ocurre con la segunda fecha de aplicación de la metamitrona en nuestro experimento. El efecto de las auxinas en esta segunda época de aplicación está basado en su acción sobre la presión de turgencia celular (Reig et al, 2016), de modo que las células de los frutos tratados aumentan de tamaño (El-Otmani et al, 1993) y con ello lo hacen los frutos. El abordaje de esta acción desde el punto de vista molecular ha sido desarrollado por Devoghalaere et al. (2012), que han demostrado que la aplicación exógena de ácido indol-3-acético al manzano aumenta la expansión celular a través de la expresión del gen *ARF106*, sugiriendo que la concentración endógena de esta hormona debe ser uno de los factores limitantes en el control del tamaño del fruto. Un estudio similar, fisiológico o molecular, no ha sido llevado a cabo hasta el momento para la metamitrona.

Un aspecto relevante de nuestro trabajo es la acción de la metamitrona sobre el fruto principal del corimbo (*King fruit*). La respuesta de este fruto es mayor que la señalada para el resto de los frutos del árbol, lo que pone en evidencia la competencia por carbohidratos entre frutos en desarrollo como determinante de su tamaño final y la acción hormonal (auxínica) que rige el crecimiento del fruto (Bangerth, 2000).

6 CONCLUSIONES

La aplicación de 1.2 ó 2.0 kg ha⁻¹ de metamitrona 12 d después de la plena floración provocó un 10% adicional de abscisión de frutos (77%) comparada con la de los árboles control (67%). En consecuencia, su tamaño final se incrementó entre un 8.1% y un 8.7%, sin diferencias significativas entre las dosis aplicadas.

Cuando la aplicación se realizó 25 d después de la plena floración la abscisión de frutos se anticipó, pero no superó a la de los árboles control. En este caso el incremento en el tamaño del fruto alcanzó el 7.1% respecto de los controles, lo que indica un efecto directo de la metamitrona sobre el tamaño del fruto.

La acción de la metamitrona es instantánea y temporal, afectando a la tasa fotosintética de las hojas, lo que reduce el aporte de carbohidratos al fruto y éstos pierden su tasa de crecimiento y se desprenden del árbol. Esta acción depresiva del desarrollo del fruto se supera en 4-6 d.

La metamitrona también altera la fotosíntesis neta del fruto. El menor transporte de carbohidratos desde las hojas, como consecuencia su efecto inhibitorio de la fotosíntesis, se traduce en una reducción de la tasa respiratoria del fruto y ésta disminuye hasta un punto tal que el CO₂ desprendido es menor que el fijado por la fotosíntesis y, en consecuencia, la fotosíntesis neta es mayor.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUSTI, M., ALMELA, V., ANDREU, I. JUAN, M. & ZACARIAS, L. (1999). Synthetic auxin 3,5,6-TPA promotes fruit development and climacteric in *Prunus pérsica* L. Batsch. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 74: 556-560.

AGUSTÍ, M., EL-OTMANI, M., AZNAR, M., JUAN, M. & ALMELA, V. (1995). Effect of 3,5,6-trichloro-2-pyridyloxyacetic acid on clementine early fruitlet development and on fruit size at maturity. *J. Hortic. Sci.*, 70: 955-962.

AGUSTÍ, M., JUAN, M., ALMELA, V., ANDREU, I. & SPERONI, C. (1997). *Estímulo del desarrollo de los frutos de hueso*. Generalitat Valenciana, Ser. Divulgació Tècnica, n. 38, 78 pp.

AGUSTI, M., JUAN, M., ALMELA, V. & SPERONI, C. (1994). The effect of 2,4-DP on fruit development in apricots (*Prunus armeniaca* L.). *Sci. Hortic.* 57: 51-57.

AGUSTÍ, M., JUAN, M., MESEJO, C., MARTÍNEZ-FUENTES, A., & ALMELA, V. (2004). Persimmon fruit size and climacteric encouraged by 3,5,6-trichloro-2- pyridyloxyacetic acid. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 79: 171-174.

ABBASPOOR, M.; TEICJER, H. & STREIBIG, J. (2006). The effect of root absorbed PSII inhibitors on Kautsky curve parameters in sugar beet. *Weed Res*, 46, 226–235.

ABELES, F.; MORGAN, P. & SALTVEITRJR, M. (1992). *Ethylene in Plant Biology*. Academic Press, New York, NY.

AGRICULTURE, FORESTRY AND FISHERY STATISTICS. PUBLICATIONS OFFICE OF THE EUROPEAN UNION (2017, December). Retrieved 03 10, 2018, from <http://ec.europa.eu/eurostat/documents/3217494/8538823/KS-FK-17-001-EN-N.pdf/c7957b31-be5c-4260-8f61-988b9c7f2316>.

AIJAZ, A. & JAHANGIR, A. T. (2015). *Malus × domestica* Borkh. - from wild resources to present day cultivated apple. 1-12.

BANGERTH, F. (2000). Abscission and thinning of young fruit and their regulation by plant hormones and bioregulators. *Plant Growth Regul.* , 31, 43–59.

BASAK, A. (2011). Efficiency of fruitlet thinning in apple ‘Gala Must’ by use of metamitron and artificial shading. *J. Fruit Ornamental Plant Res.* , 19, 51–62.

- BATJER, L.; BILLINGSLEY, H. D.; WESTWOOD, M. N. & ROGERS, B. L. (1957). Predicting harvest size of apples at different times during the growing season. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* , 70. 46-57.
- BOTTON, A.; ECCHER, G.; FORCATO, C.; FERRARINI, A.; BEGHELDO, M.; ZERMIANI, M. et al. (2011). Signaling pathways mediating the induction of apple fruitlet abscission. *Plant Physiol.* , 155, 185–208.
- BOUND, S. A.; JONES, K. M.; GRAHAM, B.; OAKFORD, M. J.; & TICHON, M. (1993). Modelling the effects of timing and rates of application of benzyladenine as a secondary thinner of Fuji apple after etephon. *J Hort Sci* , 68:967-973.
- BRUNNER P. (2015). The thinning opportunities offered by Brevis ®. The European Fruit Magazine (EFM). Nederland. 4/2015 (76) pp.14–15.
- BUKOVAC, M.; SABBATINI, P.; & SCHWALLIER, P. (2008). Characterizing the interaction between NAA and BA on apple fruit abscission and development. . *HortScience* , 43:1794-1801.
- BYERS, R. E. (1999). Factors affecting return bloom in apples. *The Mountaineer Grower* , 556. 4-12.
- BYERS, R.; BARDEN, J.; POLOMSKI, R.; YOUNG, R. & CARABAUGH, D. (1990). Apple thinning by photosynthetic inhibition. *J. AMER. SOC. HORT. SCI.* , 115(1): 14-19.
- BYERS, R. E., & CARBAUGH, D. H. (1991). Effect of chemical thinning sprays on apple fruit set. *HortTechnol* , 41-48.
- BYERS, R.; LYONS, C.; YODER, K. J.; BARDEN, J. & YOUNG, R. (1985). Peach and apple thinning by shading and photosynthetic inhibition. *J. HORT. SC* , 60(4): 465-472.
- CICCO, A. D. (2018, January 22). *European Comission*. Retrieved 03 11, 2018, from http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/The_fruit_and_vegetable_sector_in_the_EU_-_a_statistical_overview#cite_note-4
- COART, E.; VAN GLABEKE, S.; DE LOOSE, M.; LARSEN, A. & ROLDA N-RUIZ, I. (2006). Chloroplast diversity in the genus *Malus*: New insights into the relationship between the European wild apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) and the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Mol. Ecol.* , 15: 2171 – 2182.

- CORELLIGRAPADELLI, L. & LAKSO, A. (1994). Early season patterns of carbohydrate partitioning in exposed and shaded apple branches. *J. AMER. SOC. HORT. SCI.* , 119: 596-603.
- COSTA, G.; DAL CIN, V. & RAMINA, A. (2006). Physiological, molecular and practical aspects of fruit abscission. *Acta Horticulturae, The Hague* , v.727, p.301-310.
- DECKERS, T.; SCHOOF, H. & VERJANS, W. (2010). Looking for solutions for chemical fruit thinning on apple. *Acta Hort.* , 884:237–244.
- DENNIS, F.G. Jr. (2000). The history of fruit thinning. *Plant Growth Regul.*, 31: 1-16.
- DEVOGHALAERE, F., DOUCEN, T., GUITTON, B., KEELING, J., PAYNE, W., LING, T.J., ROSS, J.J., HALLETT, I.C., GUNASEELAN, K., DAYATILAKE, G.A., DIAK, R., BREEN, K.C., TUSTIN, D.S., COSTES, E., CHAGNÉ, D., SCHAFFER, R.J. & DAVID, K.M. (2012). A genomics approach to understanding the role of auxin in apple (*Malus x domestica*) fruit size control. *BMC Plant Biol.*, 12: 7.
- DZHANGALIEV, A. (2003). The wild apple tree of Kazakhstan. *Horti. Rev.* , 29: 63 – 371. .
- ELFVING, D. C. & FORSHEY, C. G. (1977). Fruit numbers, fruit size and yield relationships in 'McIntosh' apples. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* , 102. 4. 399-402.
- EL-OTMANI, M., AGUSTI, M., AZNAR, M. & ALMELA, V. (1993). Improving the size of 'Fortune' mandarin fruits by the auxin 2,4-DP. *Sci. Hortic.*, 55: 283-290.
- FALLAHI, E.; WILLIAMS, M. W. & COLT, W. M. (1997). Blossom thinning of 'Law Rome Beauty' apple with hydrogen cyanamide and monocarbamide dihydrogensulfate. *J. Tree Fruit Prod* , 2. 1. 33-44.
- FORLANI, M; BASILE, B & CIRILIO, C. (2010). Effect of a synthetic auxin on fruit size in two cultivars of apricot. *Acta Hortic.* ,862.
- FORSHEY, C. G. (1976). Factors affecting the chemical thinning of apples. *New York's Food and Life Sciences Bul.* , 64. 1-14.
- GOVINDJEE, A.; XU, C.; SCHANSKER, G. & RENSEN, J. V. (1997). Chloroacetates as inhibitors of photosystem II: effects on electron acceptor side. *Journal of Photochemistry and Photobiology* , 37, 107–117.
- GREENE, D. (2014). Use of metmitron alone and in combination with 6-benzyladenine for thinning APPLES. *Acta Horticulturae, The Hague* , v.1042, p.167-172.

GREENE, D. W.; AUTIO, W. R. & MILLER, P. (1989). Thinning activity of benzyladenine on several apple cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* , 115:394-400.

HARRIS, S. ROBINSON, J. & BE, J. (2002). Genetic clues to the origin of apple. . *Trends Genet.* , 18: 426 – 430. .

HESS, F. (2000). Light-dependent herbicides: an overview. . *WeedScience* , 48, 160–170.

HOYING, S.; LAKSO, A., ROBINSON, T. & STOVER, E. (1998). Practical thinning programs for New York. *New York Fruit Quart.* 6. 1 , 14-18.

IKEDA, Y.; OHKI, S.; KOIZUMI, K.; TANAKA, A.; WATANABE, H.; KOHNO, H., et al. (2003). Binding site of novel 2-benzylamino-4-methyl-6-trifluoromethyl-1, 3, 5-triazine herbicides in the D1 protein of Photosystem II. *Photosynthesis Research* , 77, 35–43.

JONES, K. M.; KOEN, T. B. & MEREDITH, R. J. (1983). Thinning Golden Delicious apples using etephon sprays. *J Hort Sci* , 58:381-388.

JUNIPER, B. & MABBERLEY, D. (2006). The story of the apple . *Imber Press* , 240 p.

KNIGHT, J.N. (1980). Fruit thinning of the apple cultivar Cox's Orange Pippin. *J. Hortic. Sci.* 55: 267–273

LAFER, G. (2010). Effects of chemical thinning with met amitron on fruit set, yield and fruit quality of 'Elstar'. *Acta Hortic.* , 884, 531–536.

LEE, B. & PRIESTLY, J. H. (1924). The plant cuticle. I. Its structure, distribution and function. *Annual Botany* , 38. 525-545.

LINK, H. (2000). Significance of flower and fruit thinning on fruit quality. *Plant Growth Regulation*, 31:17-26.

MARINI, R. P. (1996). Chemically thinning spur Delicious apples with carbaryl, NAA, and etephon at various stages of fruit development. *HortTechnol* , 6:241-246.

MCARTNEY, S. & OBERMILLER, J. (2012). Use of 1-aminocyclopropane carboxylic acid and met amitron for delayed thinning of apple fruit. . *HortScience* , v.47, n.11, p.1612-1616.

MCARTNEY, S. & OBERMILLER, J. (2014). Use of shading and the psII inhibitor met amitron to investigate the relationship between carbohydrate balance and chemical thinner activity in apples. . *Acta Horticulturae, The Hague* , v.1042, p.27-31.

MCARTNEY, S.; OBERMILLER, J. D. & ARELLANO, C. (2012). Comparison of the Effects of Metamitron on Chlorophyll Fluorescence and Fruit Set in Apple and Peach. *HORTSCIENCE* , 47(4):509–514.

MELAND, M. (2009). Effects of different crop loads and thinning times on yield, fruit quality, and return bloom in *Malus domestica* Borkh. 'Elstar'. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 117-121.

MESEJO, C., ROSITO, S., REIG, C., MARTINEZ-FUENTES, A. & AGUSTI, M. (2012). Synthetic Auxin 3,5,6-TPA provokes *Citrus clementina* (Hort. ex Tan) fruitlet abscission by reducing photosynthate availability. *J Plant Growth Regul.*, 31: 186–194.

MONSELISE, S. P. & GOLDSHMIDT, E. (1982). Alternate bearing in fruit trees. . *Horticultural Reviews*, 4: 128–173.

MORANDI, B.; LOSCIALE, P.; MANFRINI, L.; ZIBORDI, M.; ANCONELLI, S.; PIERPAOLI, E. & GRAPPADELLI, L. C. (2014). Leaf gas exchanges and water relations affect the daily patterns of fruit growth and vascular flows in Abbé Fétel pear (*Pyrus communis* L.) trees. *Scientia Horticulturae* 1, 78: 106–113.

PAVICIC, N. & PAULIC, N. (1989). Effect of chemical thinning on the goldspur (Auvil spur) cultivar on the amount of yield, diameter, rustiness and the degree of ripeness of the fruit (in Croatian). *Agron. glas.* , 55:3-11.

REIG, C., MESEJO, C., MARTÍNEZ-FUENTES, A. & AGUSTÍ, M. (2016). Synthetic auxin 3,5,6-TPA increases fruit size of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) by reducing cell turgor pressure. *Sci. Hortic.*, 210: 213-219.

ROBINSON, J.; HARRIS, S.; & JUNIPER, B. (2001). Taxonomy of the genus *Malus* Mill. (Rosaceae) with emphasis on cultivated apple, *Malus domestica* Borkh. *Plant Syst. Evol.* , 226: 35 – 58.

ROBINSON, T. (2011). Advances in apple culture worldwide. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, Volume Especial* , 037-047.

ROGERS, B. L. & WILLIAMS, G. R. (1977). Chemical thinning of spur-type Delicious apple fruit. *Virginia Fruit* , 65 23-28.

STERN, R. (2014). The photosynthesis inhibitor metamitron is an effective fruitlet thinner for 'Gala' apple in the warm climate of Israel. . *Scientia Horticulturae* , v.178, p.163-167.

- STERN, R.; Flaishman, M. & Ben-Arie, R. (2007a). Effect of synthetic auxins on fruit size of five cultivars of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Scientia Horticulturae* , v.112, p.304-309.
- STERN, R.; Flaishman, M.; Applebaum, S. & Ben-Arie, R. (2007b). Effect of synthetic auxins on fruit development of 'Bing' cherry (*Prunus avium* L). *Scientia Horticulturae* , v.114, p.275-280.
- TUKEY, R. B. (1970). Predicting the harvest size of 'Bartlett' pear. *Wash. State Univ. Ext. Pub. E.M*, 3403. 1-7.
- VAVILOV, N. (1926). Studies on the origin of cultivated plants. . *Trudy Byuro. Prikl. Bot.* , 16: 139 – 245.
- VELASCO, R. E. (2010). The genome of the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Nature Genet.* , 42: 833 – 839.
- VERCAMEN, J. (1997). L'eclaircissage chimique du pommier: une technique don't on ne peut plus faire ion. *Fruit Belge* , 65:51-54.
- WERTHEIM, S. (1998). Rootstock Guide. Apple, Pear, Cherry, European Plum. *Fruit Research Station Wilhelminadorp* , 144 pp.
- WILLIAMS, K. M. (1999). Growth regulator programs for chemical thinning of apple. In: Crop protection guide for tree fruits in Washington. . *Wash. St. Univ. Ext. Publ. EB* , 0419. 68-79.
- WILLIAMS, M. W. & EDGERTON, L. J. (1981). Fruit thinning of apples and pears with chemicals. *U.S. Dept. Agr. Info. Bul.* , 289.
- ZIBORDI, M.; DOMINGOS, S. & CORELLI-GRAPPADELLI, L. (2009). Thinning apples via shading: an appraisal under field conditions. *J. Hort. Sci. Biotechnol. ISAFRUIT Special Issue:* , 138-144.
- ZIBORDI, M. MORANDI, B. & CORELLIGRAPADELLI, L. (2008). Variations in fruit growth rate, tree photosynthesis, enzyme activity in shaded-for thinning apples.
- ZOHARY, D. & HOPF, M. (2000). *Domestication of Plants in the Old World*. Oxford University Press (3rd edn).