

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR
D'ENGINYERIA AGRONÒMICA I DEL MEDI
NATURAL



El control hormonal del cuajado del caqui (Diospyros kaki Thunb.).

Máster en Ingeniería Agronómica

Trabajo de Máster

ALUMNO: DIEGO CABRERA VICENTE

TUTORA: CARMINA REIG VALOR

COTUTOR: MANUEL AGUSTÍ FONFRÍA

Valencia, Enero 2018

El control hormonal del cuajado del caqui (*Diospyros kaki* Thunb.).

Resumen:

El cv. Rojo Brillante de caqui (*Diospyros kaki* Thunb.) sólo produce flores pistiladas y el ovario presenta una alta capacidad partenocárpica. Sin embargo, y tras el cuajado, los frutos sufren una caída fisiológica prolongada hasta que el árbol ajusta el número de éstos a su capacidad para desarrollarlos. Hasta hoy, no se ha estudiado dónde reside su alta capacidad partenocárpica ni cuál es la razón de la caída de sus frutos.

Estudios previos han demostrado que la presencia de los sépalos podría ser vital para que la partenocarpia tenga lugar ya que su eliminación provoca la abscisión del ovario o del fruto recién cuajado, y sugieren que las giberelinas podrían estar implicadas en el proceso, pero no han demostrado la razón de la abscisión.

En este trabajo se estudia la importancia de los sépalos en la evolución del contenido de la giberelina GA₁, del ácido indol-3-acético, del ácido abscísico y del ácido jasmónico en el ovario y su relación con el cuajado, el crecimiento del ovario/fruto, y su abscisión. Asimismo, se estudió la producción de etileno en el ovario/fruto a partir del momento de la eliminación de los sépalos como posible responsable de su abscisión.

Para ello, se comparó la evolución de los niveles hormonales de los ovarios con aquellos de flores a los que se eliminaron los sépalos en etapas pre-, durante y post-antesis, y con los de ovarios de flores desepaladas y tratadas inmediatamente con ácido giberélico. El trabajo se completa con el estudio del papel de los sépalos en etapas avanzadas del crecimiento del fruto y su maduración.

Palabras clave: ABA, AIA, Caqui, Etileno, Giberelinas, JA, Partenocarpia, Abscisión

Hormonal control of fruit set in persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.).

Abstract:

The persimmon cv. Rojo Brillante (*Diospyros kaki* Thunb.) brings only pistillate flowers and the ovary has a high parthenocarpic ability to set. However, after fruit set, fruitlets suffer a prolonged physiological drop until the tree adjusts the number of fruits to their capacity to develop them. Until now, it has not been studied where its high parthenocarpic capacity resides and what is the reason for fruitlet abscission.

Previous studies have shown that the presence of the sepals could be vital for the parthenocarpy to take place since detached sepals cause the abscission of the ovary or fruitlet, and suggests that gibberellins could be involved in the process, but reasons to explain fruitlet abscission remain unknown.

The aim of this work was to study the influence of the sepals in the ovary/fruitlet content of the gibberellin GA1, indole-3-acetic acid, abscisic acid, and jasmonic acid, and its relationship with fruit set, ovary/fruitlet growth, and fruitlet abscission. Ethylene production from the ovary/fruitlet was also studied from the sepal detachment as a possible responsible of abscission.

Time-course of the hormonal levels in the ovaries from detached-sepal-flowers in pre, during and post-anthesis stages was compared with those from intact flowers and also with flowers immediately treated with gibberellic acid after sepal detachment. The study is completed with the effect of detached sepals at advanced stages of fruit growth and at ripening.

Key words: ABA, AIA, Persimmon, Ethylene, Gibberellins, JA, Parthenocarpy, Abscission

Alumno: Diego Cabrera Vicente

Tutor Académico: Prof. Dña. Carmina Reig Valor

Cotutor Académico: Prof. D. Manuel Agustí Fonfría

Valencia, Enero 2018

A José M^a Cabrera, quien me enseñó y me introdujo en el mundo de las plantas con pasión y admiración.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO	3
MATERIAL Y MÉTODOS	4
1. Material vegetal	4
2. Diseño experimental	4
3. Producción de etileno	4
4. Análisis hormonal	5
5. Análisis estadístico	5
RESULTADOS	6
1 Influencia de la eliminación de los sépalos y de la aplicación de AG en el cuajado.	6
1.2 Influencia de la eliminación de los sépalos y de su posterior aplicación de AG en el contenido hormonal del fruto.....	7
2 Influencia de la eliminación de los sépalos en el crecimiento del fruto	11
DISCUSIÓN.....	13
CONCLUSIÓN	16
BIBLIOGRAFÍA.....	17

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Influencia de la eliminación de los sépalos en diferentes estados fenológicos (A: botón floral; B: flor en antesis; C: fruto recién cuajado) y de la aplicación de AG (10 mg l ⁻¹) tras su eliminación, sobre el porcentaje de abscisión de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui, 61, 55 y 49 días, respectivamente, después del tratamiento. Cada valor es la media de 3 árboles. Letras diferentes para cada estado fenológico indican diferencias significativas de los tratamientos. ($P \leq 0,05$).	6
Figura 2: Influencia de la eliminación de los sépalos en diferentes estados fenológicos (A: botón floral; B: flor en antesis; C: fruto recién cuajado) y de la aplicación de AG (10 mg l ⁻¹) tras su eliminación, sobre el diámetro (mm) de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui, 61, 55 y 49 días, respectivamente, después del tratamiento. Cada valor es la media de 3 árboles. Letras diferentes para cada estado fenológico indican diferencias significativas de los tratamientos. ($P \leq 0,05$).	7
Figura 3: Influencia de la eliminación de los sépalos en antesis (A) o a fruto recién cuajado (B) y de la aplicación de AG (10 mg l ⁻¹) tras su eliminación, sobre la evolución de su concentración de GA ₁ (ng/g PS) de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui. Cada valor es la media de 3 árboles. Las barras verticales indican la mínima diferencia estadística entre tratamientos. ($P \leq 0,05$).	8
Figura 4: Influencia de la eliminación de los sépalos en antesis (A) o a frutos recién cuajados (B) y de la aplicación de AG (10 mg l ⁻¹) tras su eliminación, en la concentración de GA ₁ de los frutos de caqui cv. Rojo Brillante 30 d y 24 d después, respectivamente. Cada valor es la media de 3 árboles.....	8
Figura 5: Influencia de la eliminación de los sépalos en antesis (A) o a frutos recién cuajados (B) y de la aplicación de AG (10 mg l ⁻¹) tras su eliminación, sobre la evolución de su concentración de AIA de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui. Cada valor es la media de 3 árboles. Las barras verticales indican la mínima diferencia estadística entre tratamientos. ($P \leq 0,05$).	9
Figura 6: Influencia de la eliminación de los sépalos en antesis (A) o a frutos recién cuajados (B) y de la aplicación de AG (10 mg l ⁻¹) tras su eliminación, sobre la evolución de su concentración de etileno de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui. Cada valor es la media de 3 árboles. Las barras verticales indican la mínima diferencia estadística entre tratamientos. ($P \leq 0,05$).	9
Figura 7: Influencia de la eliminación de los sépalos en antesis (A) o a frutos recién cuajados (B) y de la aplicación de AG (10 mg l ⁻¹) tras su eliminación sobre la evolución de su concentración de ABA de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui. Cada valor es la media de 3 árboles. Las barras verticales indican la mínima diferencia estadística entre tratamientos. ($P \leq 0,05$).	10
Figura 8: Influencia de la eliminación de los sépalos en antesis (A) o a frutos recién cuajados (B) y de la aplicación de AG (10 mg l ⁻¹) tras su eliminación sobre la evolución de su concentración de JA de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui. Cada valor es la media de 3 árboles. Las barras verticales indican la mínima diferencia estadística entre tratamientos. ($P \leq 0,05$).	11
Figura 9: Influencia de la eliminación de los sépalos en pleno crecimiento del fruto (7 de julio, A) o en el momento del cambio de color (18 de septiembre, B) en la evolución del diámetro del fruto del caqui cv. Rojo Brillante. Las barras indican el error estándar.	11
Figura 10: Influencia de la eliminación de los sépalos en pleno crecimiento del fruto (7 de julio, A) o en el momento del cambio de color (18 de septiembre, B) en el porcentaje de abscisión de	

frutos de cv. Rojo Brillante de caqui. Valores para 20 y 10 días después del desepalado, respectivamente. 12

Figura 11: Influencia de la eliminación de los sépalos en pleno crecimiento del fruto (7 de julio, A) o en el momento del cambio de color (18 de septiembre, B) sobre la evolución de la coloración del caqui cv. Rojo Brillante. Valores para el 6 (A) y 20 de octubre (B). a y b son coordenadas Hunter. 12

INTRODUCCIÓN

En 2016, la producción mundial de caqui fue de $5,4 \times 10^6$ t, según datos de la FAOSTAT, destacando China como la mayor productora, seguida de Corea y Japón. A nivel europeo la mayor productora fue España con 311.000 t.

El caqui (*Diospyros kaki* Thunb.) pertenece a la familia Ebanaceae. Es un árbol vigoroso, con porte globoso, poco ramificado, y en condiciones espontáneas de crecimiento puede alcanzar los 10 metros de altura. Tiende a la verticalidad, pero posee ramas frágiles.

Las hojas tienen el peciolo corto, son alternas y enteras, y pueden caer antes de que el fruto haya completado su proceso de maduración. Las flores se desarrollan a partir de yemas mixtas en las axilas de las hojas. Los pétalos son blancos y adquieren forma pendular; el cáliz es grande, verde y sus sépalos permanecen en el fruto a lo largo del desarrollo. Las plantas más frecuentes en este cultivo son las monoicas femeninas y las dioicas masculinas y femeninas, pero sus flores pueden ser masculinas, femeninas o hermafroditas, y presentarse en plantas dioicas y monoicas. Ragazzini (1985) y Agustí (2010) han revisado las características morfológicas y fisiológicas de esta especie.

La fecundación del caqui es heterógama, y esencialmente entomófila, pero, actualmente, son las variedades partenocárpicas las más cultivadas.

Desde finales de mayo hasta finales de agosto, el caqui sufre la abscisión fisiológica del 40-50% de los frutos que inician su crecimiento, de modo que las características y la cosecha (época de maduración, tamaño y características del fruto) están autorreguladas, y a pesar de la intensidad del proceso de abscisión el árbol es capaz de adaptar el número de frutos a sus posibilidades de producción.

El ovario, tras la fecundación o el estímulo partenocárpico, inicia su desarrollo hasta la maduración. Este proceso tiene lugar en fases sucesivas, con cambios característicos bien definidos, variables en duración en función de las condiciones ambientales, y sigue una curva sigmoide en la que se diferencian: fase I, caracterizada por la proliferación celular, fase II, en la que comienza el periodo de engrosamiento celular, y fase III, en la que el fruto completa su crecimiento y madura.

En los frutos con crecimiento sigmoide, la nucela, los carpelos y el embrión adquieren casi su tamaño final durante la fase I, creciendo cada parte de modo distinto.

En la primera fase del crecimiento, los frutos tienen una coloración verde oliva, y con el desarrollo van adquiriendo un tono amarillento. Poco antes del envero, que ocurre a mediados del mes de octubre, se da un crecimiento intenso del fruto que se detiene cuando comienza a tener un colorido amarillo-anaranjado, y próximo a la maduración la epidermis del fruto adquiere la coloración definitiva. Dependiendo del cultivar, a partir de finales de septiembre o principio de octubre se inicia la recolección, que se prolonga hasta principios de enero.

Yonemori et al. (1995; 1996) demostraron que la presencia del cáliz es esencial en el proceso de desarrollo de este fruto. Así, si los pétalos se eliminan en las primeras fases de su desarrollo, éste se desprende del árbol (Bosch, 2014), y si se hace en la fase anterior a la madurez comercial, el fruto y la semilla cesan su crecimiento. Con todo, no se conoce el mecanismo a través del cual los lóbulos del cáliz controlan la abscisión y el desarrollo del fruto. En las hojas y frutos maduros, el etileno generado espontáneamente por causas diversas es responsable de su abscisión, y ésta se puede provocar con su aplicación. Pero que la caída de frutos originada por la eliminación de los lóbulos del cáliz esté mediada por la síntesis de etileno, u otro regulador del desarrollo, está por estudiar.

Bosch (2014) relacionó la concentración de giberelinas con el cuajado del caqui, de modo que la GA₁ y la GA₄ aumentan su concentración en las flores en el momento de la antesis. Pero un estudio sobre su acción sumidero de carbohidratos capaz de explicar la retención del fruto o su abscisión, tampoco se ha realizado. En muchas especies frutícolas los frutos caen por un fenómeno de competencia entre frutos por carbohidratos, pero Schaffer y Andersen (1994a; 1994b) demostraron que el cuajado y la caída fisiológica de los frutos están influidos, además, por las condiciones ambientales, temperatura y HR sobre todo.

La actividad hormonal se ve reflejada sobre la expresión génica, la funcionalidad de las membranas y la actividad enzimática. Estas sustancias interactúan entre ellas inhibiendo y promoviendo procesos que dan lugar a la regulación del desarrollo. En los frutos, la actividad hormonal depende de la síntesis que pueda realizar el propio fruto, del transporte, ya sea hacia el fruto o del fruto hacia otros órganos, y de su activación o inactivación.

En la mayoría de los frutos, las hormonas se sintetizan en las semillas, siendo éstas las responsables del desarrollo del fruto. En los frutos partenocárpicos, aunque no existen semillas, el crecimiento está controlado, también, hormonalmente, siendo las paredes del ovario el tejido que sintetiza las giberelinas (Mesejo *et al.*, 2016).

OBJETIVO

En este trabajo se estudia el control hormonal del cuajado del caqui cv. Rojo Brillante, de acuerdo con la siguiente Hipótesis de Trabajo: *La giberelina GA₁ es responsable de la partenocarpia en el caqui.*

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Material vegetal

El experimento se realizó en una parcela comercial de árboles adultos de caqui (*Diospyros kaki* Thunb.), cv. Rojo Brillante, injertados sobre patrón *D. lotus*, situada en el término municipal de L'Alcudia (Valencia), con suelo franco-arcilloso y riego por goteo, en plena producción y bajo condiciones óptimas de cultivo.

2. Diseño experimental

El experimento cuenta con dos partes, una en la que se sigue la evolución del fruto desde la aparición de la flor hasta su maduración, y otra en la que se sigue el crecimiento de flores/frutos. En este último caso, se le realizaron dos tratamientos: 1) la eliminación de los sépalos, y 2) la eliminación de éstos seguida de la aplicación de 10 mg l^{-1} de ácido giberélico.

Los estados fenológicos del desarrollo en los que se realizaron los tratamientos y las fechas de éstos son los siguientes:

BF: Botón floral (estado 55 de la escala BBCH) → 20 abril

FA: Flor en antesis (estado 65 de la escala BBCH) → 26 abril

FRC: Fruto recién cuajado (estado 71 de la escala BBCH) → 2 mayo

FD: Fruto en desarrollo (estado 72 de la escala BBCH) → 7 julio

FCC: Fruto cambiando de color (estado 78 de la escala BBCH) → 18 septiembre

En cada una de estas fases, se marcaron al azar flores/frutos control y flores/frutos a los que se les eliminaron de forma manual los lóbulos de los sépalos. En las tres primeras épocas, además, se aplicó ácido giberélico (AG; 10 mg l^{-1}) tras el desepalado.

Se utilizaron 17 árboles, en los que se marcaron, al azar, 105 flores/frutos desepalados, otros 105 desepalados y tratados con AG, y otros 105 intactos, que se utilizaron como control.

En todos los casos se realizó un seguimiento periódico de la abscisión, de la evolución del diámetro y del color del fruto, cuando fue procedente, y se tomaron muestras para el análisis de hormonas y de azúcares.

La aplicación de ácido giberélico se llevó a cabo con un spray manual, mojando las flores/frutos hasta el goteo. A la solución a aplicar se le añadió un mojante no iónico [éter de alquilpoliglicol 20% p/v (200 g/l) (Elogium[®])], a una concentración de 0.4 – 0.5%.

3. Producción de etileno

Periódicamente, se determinó la producción de etileno de los sépalos eliminados y de 5 flores/frutos por tratamiento, introduciéndolos en botes de cristal (147 ml), herméticamente

cerrados, hasta el momento del análisis. Previamente las muestras se pesaron. A tiempos variables se extrajeron tres alícuotas de la atmósfera de cada frasco, mediante jeringas de 1 ml. La concentración de etileno de las alícuotas se analizó en un cromatógrafo de gases Trace™ Ultra Gas Chromatograph (ThermoFisherScientific Inc., Waltham, MA, USA) con detector de ionización de llama, dotado de una columna de alúmina (óxido de aluminio activado) de acero inoxidable de 2 m de longitud y 2 mm de diámetro interno, y nitrógeno como gas portador, a un flujo de 45 ml/min.

La temperatura de la columna, del inyector y del detector fue de 140°C, 160°C y 180°C, respectivamente. La producción de etileno de cada muestra se calculó por comparación a partir de un patrón de etileno de concentración 1 mg l⁻¹, y los resultados se expresan en nl por g de peso fresco (PF) y por hora.

4. Análisis hormonal

Las muestras tomadas de material vegetal se congelaron inmediatamente, se liofilizaron y trituraron hasta polvo fino. A partir de alícuotas duplicadas de cada muestra (50 mg), se llevó a cabo una extracción con metanol 80%: ácido acético 1% (v/v), en presencia de diferentes estándares internos, que permitió la cuantificación de cada una de las giberelinas consideradas. Las giberelinas estándar estaban marcados con deuterio y fueron proporcionadas por OIChemimLtd - Olomouc, Camberra, y Cambridge IsotopeLab- Andover.

Para recuperar la fracción ácida en la que se localizan la giberelina 1 (GA₁), el ácido abscísico (ABA), el ácido jasmónico (JA) y el ácido indolacético (AIA), las muestras se pasaron, consecutivamente, a través de columnas HLB (fase reversa), MCX (intercambio catiónico) y WAX (intercambio iónico) (Oasis 30 mg. Waters) como se describe en Seo et al. (2011). Las muestras, a continuación, se llevaron a sequedad en rotovapor.

El residuo fue disuelto en CH₃CN 5%: ácido acético 1%, y las hormonas se separaron por ultra-cromatografía en fase reversa (UHPLC), mediante una columna RP-MS Accuore 2.6µm (50 mm x 2.1 mm i.d.: Thermo Fisher Scientific) y con un gradiente de acetonitrilo (5-50%). Las hormonas fueron detectadas y analizadas en un espectrómetro masas/masas (Q-exactiveOrbitrap detector, Thermo Fisher Scientific). La concentración de las hormonas en los extractos se determinó según las curvas de calibración realizadas previamente. La interpretación de los resultados se realizó mediante los programas Xcalibur 2.2 SP1 y TraceFinder.

5. Análisis estadístico

A los resultados obtenidos se les aplicó el análisis de la varianza con un nivel de confianza $P \leq 0.05$. Para la separación de las medias se aplicó el test LSD. A los valores porcentuales se les aplicó la transformación $\arcsen\sqrt{P}$ para normalizar la muestra.

RESULTADOS

1 Influencia de la eliminación de los sépalos y de la aplicación de AG en el cuajado.

La eliminación de los sépalos aumentó significativamente el porcentaje de abscisión de los frutos, independientemente de la época en que se realizó, en un 60 y 63 % respecto del control y de los que se trataron con AG, respectivamente (Fig. 1).

Aproximadamente a los 60 días después de la eliminación de los sépalos (20 junio), todos los frutos se habían desprendido del árbol cuando los sépalos se eliminaron en botón floral o antes (Fig. 1 A y B), pero no cuando se realizó en la época de fruto recién cuajado, para la que la abscisión no superó el 90 % (Fig. 1 C).

Sin embargo, la aplicación inmediata de AG tras la eliminación de los sépalos redujo significativamente la abscisión, igualándola al control. El tratamiento fue efectivo independientemente de la época en que se realizara, reduciendo en un 32 % el porcentaje de abscisión por término medio, respecto a los que se les eliminaron los sépalos (Fig. 1).

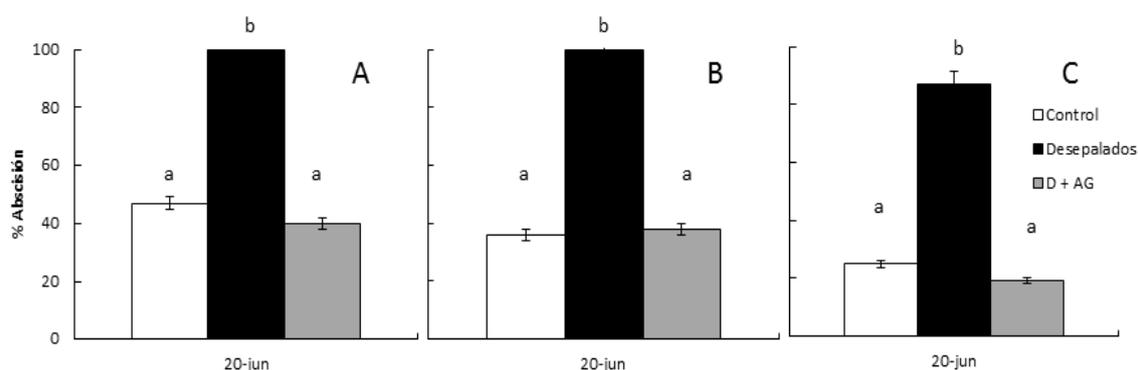


Figura 1: Influencia de la eliminación de los sépalos en diferentes estados fenológicos (A: botón floral; B: flor en antesis; C: fruto recién cuajado) y de la aplicación de AG (10 mg l^{-1}) tras su eliminación, sobre el porcentaje de abscisión de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui, 61, 55 y 49 días, respectivamente, después del tratamiento. Cada valor es la media de 3 árboles. Letras diferentes para cada estado fenológico indican diferencias significativas de los tratamientos. ($P \leq 0,05$).

La eliminación de los sépalos también afectó significativamente al diámetro de los frutos que salvaron la abscisión. Así, los frutos desepalados y tratados con 10 mg l^{-1} de AG, que no se desprendieron de la planta cuando los sépalos se eliminaron en botón floral o en antesis, fueron 13 y 9 mm inferiores a los de los controles, respectivamente ($P \leq 0,05$) (Fig. 2 A y B). Cuando los sépalos se eliminaron de los frutos recién cuajados su diámetro a los 49 días, cuando la abscisión ya había cesado, era 9 mm inferior al de los controles, y prácticamente igual que el de los desepalados y tratados con AG (Fig. 2 C).

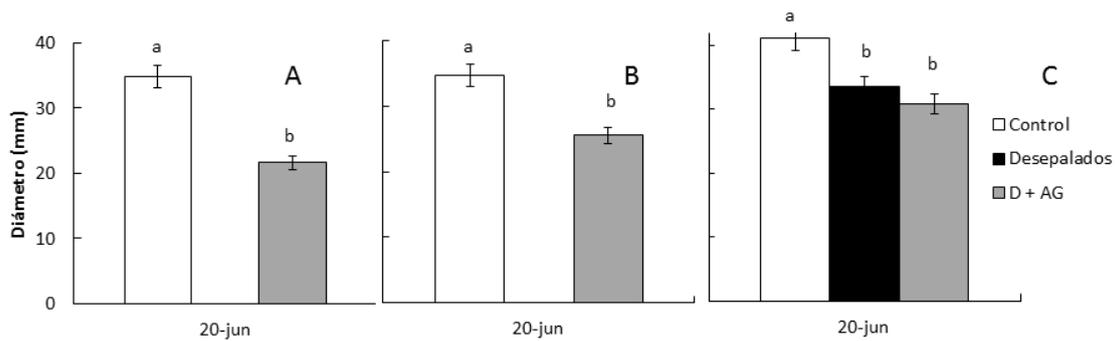


Figura 2: Influencia de la eliminación de los sépalos en diferentes estados fenológicos (A: botón floral; B: flor en antesis; C: fruto recién cuajado) y de la aplicación de AG (10 mg l^{-1}) tras su eliminación, sobre el diámetro (mm) de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui, 61, 55 y 49 días, respectivamente, después del tratamiento. Cada valor es la media de 3 árboles. Letras diferentes para cada estado fenológico indican diferencias significativas de los tratamientos. ($P \leq 0,05$).

1.2 Influencia de la eliminación de los sépalos y de su posterior aplicación de AG en el contenido hormonal del fruto.

La concentración de GA_1 de las flores/frutos de los arboles control y de los desepalados siguió la misma tendencia, independientemente de la época en que se eliminaran los sépalos (Fig. 3). En ambos casos el máximo contenido de GA_1 fue una semana después de la antesis y, por tanto, durante el proceso de cuajado (10 mayo).

Sin embargo, mientras en la primera época no se encontraron diferencias significativas en el máximo de los controles y desepalados, con un contenido promedio de $5,5 \text{ ng/g PS}$, en la segunda la concentración de GA_1 fue significativamente superior en los primeros ($6,4 \text{ ng/g PS}$) que en los segundos (4 ng/g PS) (Fig. 3). Esta diferencia se mantuvo 7 días más tarde, perdiéndose en la última fecha de muestreo.

Es de destacar, que aunque en ambas épocas el contenido máximo de GA_1 se encontró en frutos en estados iniciales del desarrollo (10 mayo), la eliminación de los sépalos durante la antesis no alteró este contenido (Fig. 3 A), mientras que cuando éstos se eliminaron más tarde, en frutos recién cuajados, sí se alteró, siendo un 47 % inferior en los frutos desepalados (Fig. 3 B). Es más, el descenso en la concentración de GA_1 registrado en ambos casos una semana más tarde fue más acusado en los controles y desepalados en antesis que cuando el tratamiento se hizo en estados fenológicos más desarrollados, es decir, en fruto recién cuajado. En los primeros el descenso fue de $5,5$ a $0,8 \text{ ng/g PS}$ de GA_1 , en promedio, para controles y tratados (Fig. 3 A), mientras que en los segundos fue de $6,4$ a $3,8 \text{ ng/g PS}$ para los controles y de 4 a 1 ng/g PS para los desepalados (Fig. 3 B). Del mismo modo, en el momento de finalizar la abscisión, el contenido en GA_1 de los frutos desepalados fue el más bajo (Fig. 4).

Estos resultados están en consonancia con los observados en el porcentaje de abscisión, de manera que cuando el descenso en la concentración de GA_1 es más acusado (Fig. 3 B) el porcentaje de abscisión también lo es (Fig. 1).

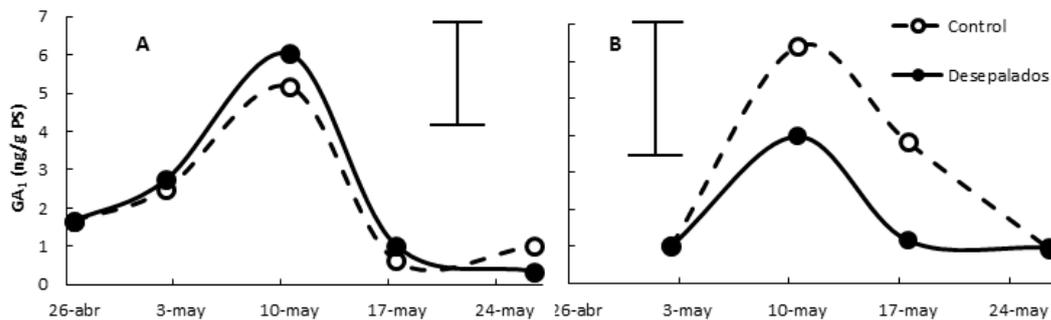


Figura 3: Influencia de la eliminación de los sépalos en antesis (A) o a fruto recién cuajado (B) y de la aplicación de AG (10 mg l⁻¹) tras su eliminación, sobre la evolución de su concentración de GA₁ (ng/g PS) de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui. Cada valor es la media de 3 árboles. Las barras verticales indican la mínima diferencia estadística entre tratamientos. (P ≤ 0,05).

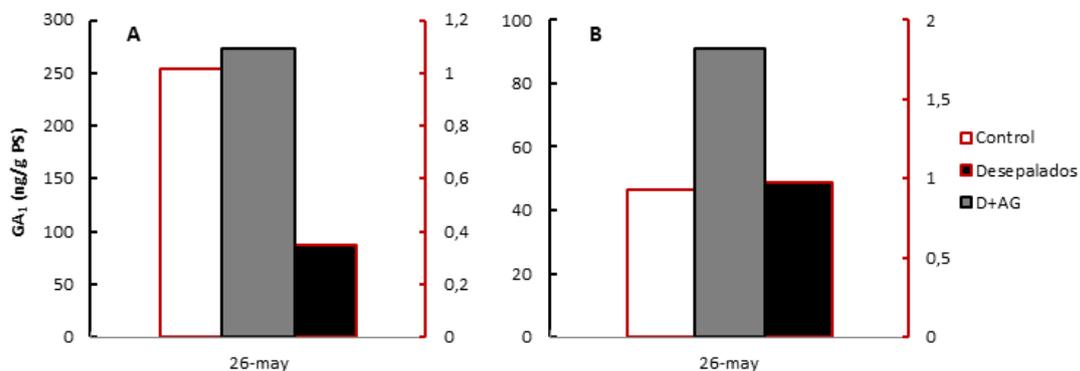


Figura 4: Influencia de la eliminación de los sépalos en antesis (A) o a frutos recién cuajados (B) y de la aplicación de AG (10 mg l⁻¹) tras su eliminación, en la concentración de GA₁ de los frutos de caqui cv. Rojo Brillante 30 d y 24 d después, respectivamente. Cada valor es la media de 3 árboles.

Algo parecido ocurrió con el ácido indolacético. Tampoco la eliminación de los sépalos, sola o junto con la aplicación de AG, consiguió modificar su evolución independientemente de la época en que se realizaron los tratamientos (Fig. 5), si bien cuando éstos se llevaron a cabo a flores en antesis la concentración de AIA fue, prácticamente a lo largo de todo el periodo de estudio, marcadamente superior en aquellas que se trataron con AG tras la eliminación de sus sépalos. Aunque en todos los casos la tendencia fue decreciente, en estas últimas lo fue menos acusada y 14 días después del tratamiento (10 mayo) era del doble y triple, superior al desepalado y control, respectivamente (Fig. 5 A). Estas diferencias, aunque de menor magnitud, se mantuvieron 7 días más tarde perdiéndose en el último punto de muestreo.

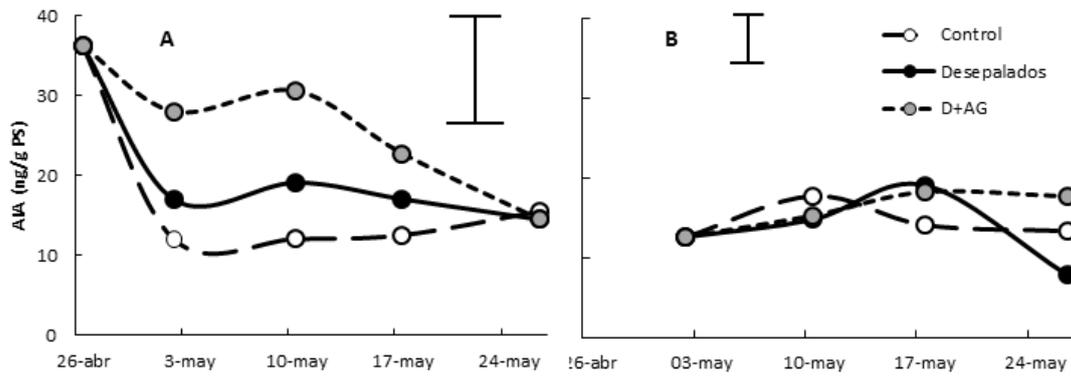


Figura 5: Influencia de la eliminación de los sépalos en anthesis (A) o a frutos recién cuajados (B) y de la aplicación de AG (10 mg l^{-1}) tras su eliminación, sobre la evolución de su concentración de AIA de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui. Cada valor es la media de 3 árboles. Las barras verticales indican la mínima diferencia estadística entre tratamientos. ($P \leq 0,05$).

El contenido de etileno también se vio alterado por los tratamientos. Aunque en todos ellos la producción máxima se alcanzó durante la anthesis, el efecto de la eliminación de los sépalos en este estado fenológico aumentó en dos veces la de los controles, y en tres la de los frutos tratados con AG (Fig. 6 A). Siete días más tarde, la concentración descendió drásticamente hasta valores prácticamente nulos, manteniéndose posteriormente estable hasta el final del periodo de estudio. En los tratados con AG, el descenso de la concentración de etileno se pospuso ligeramente y fue de manera más suave, hasta 15 días después (Fig. 6 A). Sin embargo, cuando los tratamientos se realizaron en estados fenológicos más avanzados, es decir, al fruto recién cuajado, apenas se encontraron diferencias. En este caso, sólo los tratados con AG difirieron del resto de tratamientos. Así, dos días después de la realización de éstos, se obtuvo un pico máximo de 4 nl/g PF h , que descendió a continuación igualándose al resto (Fig. 6 B). Es de destacar que el pico máximo de etileno encontrado en las flores control y desepaladas en anthesis tratadas y sin tratar con AG (Fig. 6) fue previo a la caída de los pétalos y, por tanto, coincidente con su senescencia. Por el contrario, cuando los tratamientos se realizaron en fruto recién cuajado y, por tanto, ya sin la corola, estos máximos de etileno no se encontraron.

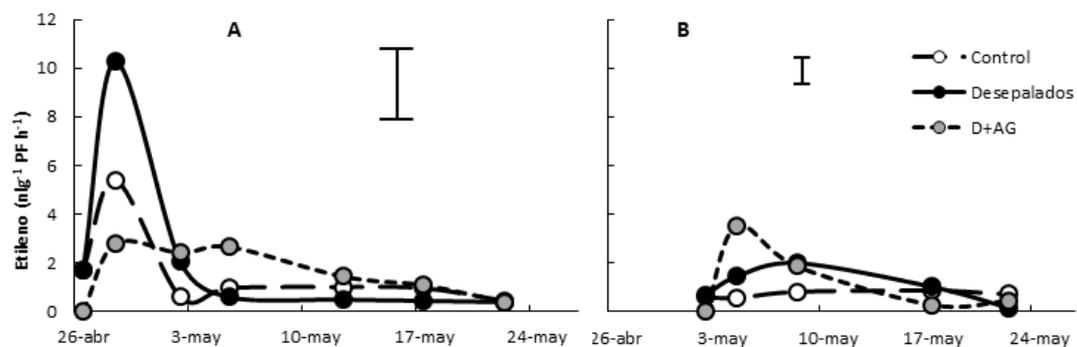


Figura 6: Influencia de la eliminación de los sépalos en anthesis (A) o a frutos recién cuajados (B) y de la aplicación de AG (10 mg l^{-1}) tras su eliminación, sobre la evolución de su concentración de etileno de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui. Cada valor es la media de 3 árboles. Las barras verticales indican la mínima diferencia estadística entre tratamientos. ($P \leq 0,05$).

La eliminación de los sépalos a flores en antesis también alteró significativamente la concentración de ABA respecto del control y de las que se trataron con AG. Así, 21 días después de los tratamientos (17 mayo) mientras la concentración de las flores control era de 9000 ng/g PS, la de las desepaladas y de las de, además, tratadas con 10 mg l⁻¹ de AG era, para ambas, de 1000 ng/g PS, aproximadamente (Fig. 7 A). El pico máximo de ABA en las flores desepaladas en antesis coincidió con el momento en que en éstas se completó el 100 % de abscisión de las mismas (datos no presentados). En el resto de los tratamientos la concentración de esta hormona permaneció estable a lo largo de todo el periodo de estudio (Fig. 7 A). Cuando los mismos tratamientos se realizaron en estados más avanzados del desarrollo (fruto recién cuajado), la respuesta fue diferente. En este caso, mientras la concentración de ABA permaneció prácticamente estable a lo largo del tiempo en los frutos recién cuajados control y desepalados, en los tratados con 10 mg l⁻¹ de AG tras el desepalado aumentó gradualmente hasta (2000 ng/g PS) 15 días después del tratamiento, descendiendo hasta igualarse con el resto de tratamientos 9 días más tarde (Fig. 7 B). En esta época, los valores tan bajos respecto de los tratados en antesis restan toda importancia a la acción del ABA.

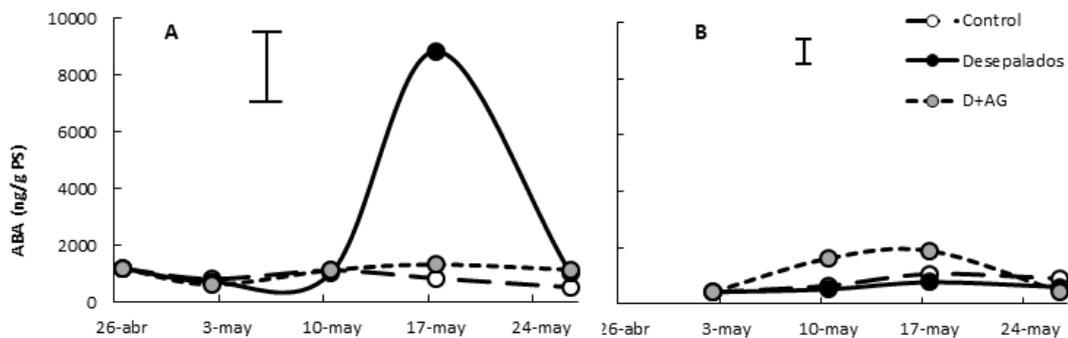


Figura 7: Influencia de la eliminación de los sépalos en antesis (A) o a frutos recién cuajados (B) y de la aplicación de AG (10 mg l⁻¹) tras su eliminación sobre la evolución de su concentración de ABA de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui. Cada valor es la media de 3 árboles. Las barras verticales indican la mínima diferencia estadística entre tratamientos. ($P \leq 0,05$).

La evolución de la concentración de JA apenas se vio alterada por los tratamientos cuando éstos se realizaron a flores en antesis. En todos los casos la concentración decreció drásticamente 6 días después de los tratamientos de 650 ng/g PS a 100 ng/g PS, manteniéndose prácticamente estable hasta el final del periodo (Fig. 8 A). Sin embargo, el estudio de estos resultados con la modificación de la escala, permitió observar un aumento del JA en las flores desepaladas 21 días después de la eliminación de los sépalos (Fig. 8 A) que coincidió con el encontrado en el ABA (Fig. 7 A). También el control mostró un aumento significativo de la concentración de JA en la última fecha de estudio que, por el contrario, no coincidió con la de ABA (Fig. 7 A). Cuando los tratamientos se realizaron a frutos recién cuajados la respuesta fue diferente. Así, mientras en los controles la concentración de JA fue aumentando progresivamente, en los desepalados, tratados o no con AG, descendió paralelamente (Fig. 8 B). Tampoco en este caso hubo relación alguna entre la evolución del ABA y del JA.

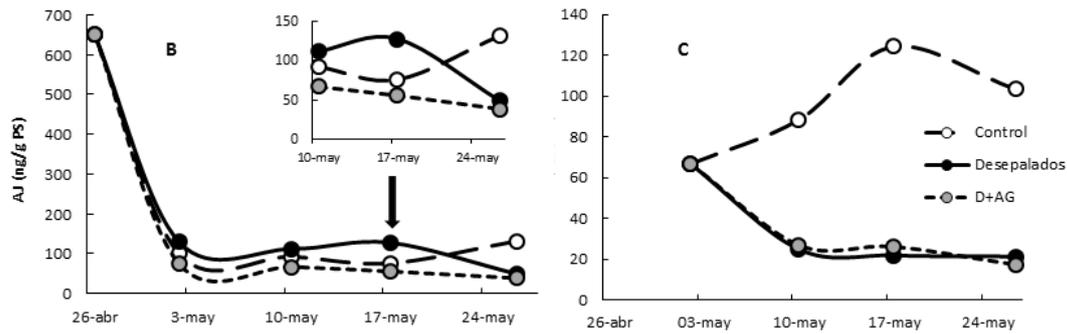


Figura 8: Influencia de la eliminación de los sépalos en anthesis (A) o a frutos recién cuajados (B) y de la aplicación de AG (10 mg l^{-1}) tras su eliminación sobre la evolución de su concentración de JA de los frutos del cv. Rojo Brillante de caqui. Cada valor es la media de 3 árboles. Las barras verticales indican la mínima diferencia estadística entre tratamientos. ($P \leq 0,05$).

2 Influencia de la eliminación de los sépalos en el crecimiento del fruto

La eliminación de los sépalos cuando el fruto ya había iniciado su desarrollo, esto es, cuando ya había alcanzado 45 mm de diámetro (7 de julio), redujo su crecimiento y tamaño final. Así, 20 días después de ser eliminados los sépalos, los frutos habían reducido su diámetro medio en cerca de 6 mm y en el momento del cambio de color alcanzaron un diámetro 3.5 mm inferior al de los frutos sin desepalar (Fig. 9 A). Sin embargo, la eliminación de los sépalos en esta época tuvo una incidencia muy baja sobre la abscisión de frutos que apenas alcanzó al 1.5% de los presentes en el momento del tratamiento (Fig. 10 A). Ningún fruto sin desepalar cayó en esta etapa del desarrollo. El desepalado al inicio del cambio de color del fruto (18 de septiembre) no afectó a su crecimiento (Fig. 9 B) ni a su abscisión (Fig. 10 B).

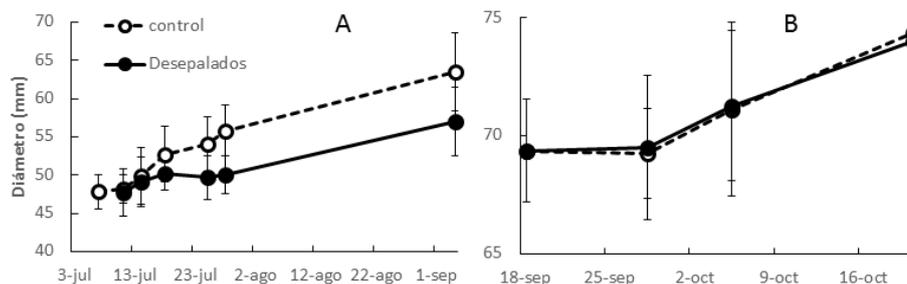


Figura 9: Influencia de la eliminación de los sépalos en pleno crecimiento del fruto (7 de julio, A) o en el momento del cambio de color (18 de septiembre, B) en la evolución del diámetro del fruto del caqui cv. Rojo Brillante. Las barras indican el error estándar.

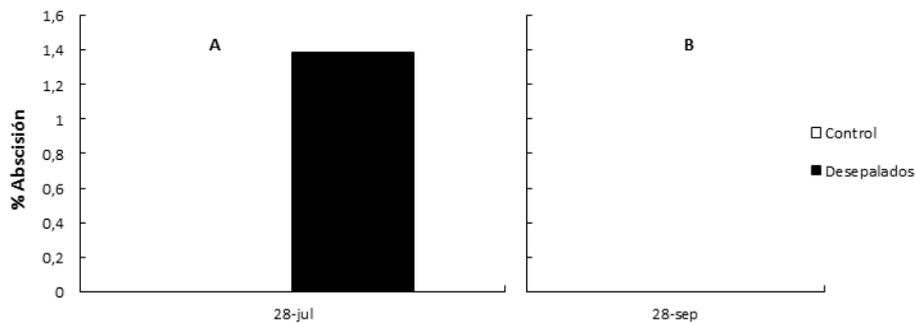


Figura 10: Influencia de la eliminación de los sépalos en pleno crecimiento del fruto (7 de julio, A) o en el momento del cambio de color (18 de septiembre, B) en el porcentaje de abscisión de frutos de cv. Rojo Brillante de caqui. Valores para 20 y 10 días después del desepalado, respectivamente.

Un aspecto de interés es la influencia que la eliminación de los sépalos en la fase de crecimiento del fruto tuvo sobre su entrada en color. Así, cuando se eliminaron al inicio de la fase lineal del crecimiento (7 de julio) ésta se anticipó significativamente y el 6 de octubre cuando la relación a/b de coordenadas Hunter era de 0.10 en los controles, en los despalados era ya de 0.28 (Fig. 11 A). Sin embargo, su eliminación al inicio del cambio de color la retrasó, y así cuando los controles el 20 de octubre ya habían alcanzado el valor 0.23 en la relación a/b, el de los desepalados era de 0.15 (Fig. 11 B). Tomando los valores de ambas fechas, el desepalado al inicio de la fase lineal del crecimiento del fruto anticipó el cambio de color de éste en cerca de 20 días, mientras que el desepalado al inicio del cambio de color retrasó la coloración cerca de una semana.

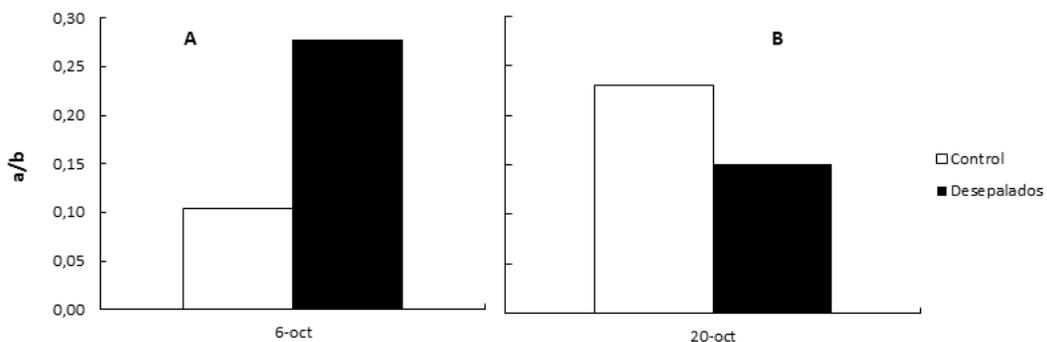


Figura 11: Influencia de la eliminación de los sépalos en pleno crecimiento del fruto (7 de julio, A) o en el momento del cambio de color (18 de septiembre, B) sobre la evolución de la coloración del caqui cv. Rojo Brillante. Valores para el 6 (A) y 20 de octubre (B). a y b son coordenadas Hunter.

DISCUSIÓN

El cuajado del fruto en la mayor parte de las especies leñosas frutícolas está regulado por las giberelinas (GAs) (Nitsch, 1971; Goodwin, 1978; Ruan *et al.*, 2012). Este es el caso de la mandarina Clementina (García-Papí y García-Martínez, 1984), el naranjo dulce (Wiltbank y Krezdorn, 1969), el género *Prunus* (Martin y Campbell, 1976), el mango (Ram, 1983), el aguacate (Blumenfeld y Gazit, 1972), el níspero japonés (Gómez *et al.*, 2016), etc. Estas hormonas promueven la división celular en las etapas previas y durante la antesis de la flor, y tras la fecundación garantizan la supervivencia del ovario a través de su capacidad de atraer carbohidratos. Su síntesis tiene lugar en el embrión recién formado tras la fecundación (Ruan *et al.*, 2012) o en las paredes del ovario en los casos de desarrollo partenocárpico (Mesejo *et al.*, 2016).

El caqui es una especie de cuajado complejo, al que se une su característica de astringencia o no. Pero en todo caso, hay cultivares de cuajado por fecundación y partenocárpico. Entre estos últimos se encuentra el cv. Rojo Brillante, astringente, y de elevada capacidad partenocárpica.

En esta especie, los sépalos crecen hasta, aproximadamente, 15-20 días después de la antesis. Este aspecto puede ser de interés puesto que, en general, las flores, los frutos y sus órganos (sobre todo los sépalos) son fotosintéticamente activos y pueden contribuir, en parte, a los requerimientos de carbono del ovario en desarrollo (Blanke y Lenz, 1989). Así, por ejemplo, en el melocotonero la fotosíntesis generada por el fruto contribuye entre el 5% y el 9% al requerimiento total de C del fruto (Pavel y Dejong, 1993).

En el caqui, los sépalos son relativamente grandes, están provistos de gran número de estomas (Maeda, 1968), y retienen clorofila hasta la maduración. Es más, su eliminación en las etapas iniciales del fruto reduce el cuajado y el crecimiento inicial del fruto (Maeda, 1968), como ocurre en nuestros experimentos. Estos resultados son coherentes con los de Hirano *et al.* (1995) que encuentran una reducción significativa de azúcares reductores cuando eliminan los sépalos al inicio o durante el desarrollo del fruto, y, con ello, un descenso del tamaño del fruto, al igual que ocurre en nuestro estudio. A pesar de ello, los estudios de Nakano *et al.* (1997) indican que la actividad fotosintética de los sépalos no contribuye al desarrollo inicial del fruto. Estos autores solo abordaron el estudio bajo el punto de vista nutricional y, por tanto, obviaron el control hormonal que rige el cuajado y desarrollo del fruto, particularmente en los cultivares partenocárpico (Schwabe y Mill, 1981), así como la abscisión de los frutitos recién cuajados (Addicott, 1982).

A la vista de ello, y con el fin de dar una explicación al papel de los sépalos, Yonemori *et al.* (1995) sugirieron que el efecto de la eliminación de los sépalos al inicio del desarrollo del fruto del caqui reduciendo su crecimiento podría ser a través de alteraciones hormonales (Yonemori *et al.*, 1995). Apoyándose en estos estudios, Kojima *et al.* (1999) estudiaron los cambios del ácido abscísico (ABA), ácido indolacético (AIA) y *sustancias-similares* a las giberelinas (GAs), en el cv. partenocárpico Hiratanenashi, durante el periodo entre 5 días antes y 122 días después de la antesis, concluyendo que el incremento endógeno del AIA y de las GAs debía ser responsable del mantenimiento del fruto en el árbol, esto es, del cuajado, pero que la relación

entre la reducción de su concentración y el incremento de la de ABA correlacionaba bien con su abscisión. Nuestros resultados son coherentes con todo ello, pero estos autores no distinguieron entre las giberelinas porque la capacidad de análisis de éstas en la época de su estudio no lo permitía y, por tanto, no pudieron referir sus resultados a la giberelina activa GA₁.

El hecho de que la eliminación de los sépalos provoque la abscisión del fruto supone una buena herramienta para estudiar, comparativamente, la evolución de la concentración de hormonas en el fruto y el papel de éstas en el proceso del cuajado. Y es de este modo como se ha llevado a cabo nuestro estudio. Así, la separación de los sépalos provocó la abscisión del fruto a los 16 y 20 días de efectuada ésta en botón floral o antesis, y a los 25-30 días ésta había alcanzado el 100% y el 80% de los frutos, respectivamente. Dado que la eliminación de los sépalos supone efectuar una herida y en los tejidos vegetales éstas promueven la síntesis de etileno (Yu y Yang, 1980) y esta hormona es un potente abscisor de hojas y frutos (Ruperti *et al.*, 1998; Cinet *et al.*, 2005), se estudió su producción en los frutos desepalados con el fin de determinar su papel en el papel abscisor de la eliminación de los sépalos. Y, en efecto, el desepalado produjo etileno, pero a las pocas horas de producirse la herida, esto es, entre 15 y 18 días antes de producirse la abscisión, de modo que no es posible atribuir ésta a la producción de etileno. La producción de etileno registrada en nuestro estudio es consecuencia de la senescencia de los pétalos (Itzhaki *et al.*, 1994), lo que es coherente con que nuestro pico de producción sea coincidente con la antesis de la flor, independientemente del momento de desepalado.

Más probable es que sean las GAs las responsables de este proceso. En efecto, en nuestro estudio el descenso en la concentración de la giberelina GA₁ es coincidente con el inicio de la abscisión en los controles y cuando el descenso en la concentración de GA₁ es más acusado el porcentaje de abscisión también lo es. Es más, el contenido en GA₁ de los frutos desepalados es significativamente más bajo que el de los frutos control y la aplicación de AG tras el desepalado de los frutos contrarrestó el efecto abscisor de la eliminación de los sépalos y retardó significativamente la tasa de abscisión respecto de los controles. Este efecto del ácido giberélico reduciendo la abscisión del fruto recién cuajado ha sido demostrado en muchas especies frutícolas, y su uso está generalizado para provocar el cuajado de cultivares de baja capacidad partenocárpica (Davies, 2010).

Un efecto similar puede atribuirse al AIA. En efecto, este desciende con el tiempo al mismo tiempo que progresa la abscisión de frutitos, y su contenido es más elevado en los ovarios de las flores tratadas con AG tras ser desepaladas. Este efecto es coincidente con el papel reconocido a las auxinas en el proceso de división (Campanoni y Nick, 2005; Schruff *et al.*, 2006) y elongación celular (Cleland, 1987). Es más, plantas mutantes de *Arabidopsis* y de tomate deficientes en la síntesis de AIA ven impedido el cuajado de sus frutos aún en condiciones de fecundación. Asimismo, existen fuertes evidencias del papel del AIA en sinergismo con las giberelinas, potenciando la posibilidad de un control multihormonal del proceso de cuajado (Serrani *et al.*, 2008).

Pero, la eliminación de los sépalos podría desencadenar también reacciones de estrés oxidativo (ROS) en la planta que desempeñan un papel muy importante en la señalización

celular, como la síntesis hormonal o incluso la programación de la muerte celular. En este sentido, numerosos trabajos relacionan estas reacciones oxidativas como señales inductoras de la síntesis de ABA. Esta hormona se acumula como respuesta al estrés generado induciendo la abscisión del fruto vía cierre estomático y activación de la membrana plasmática (ver la revisión de Apel y Hirt, 2004).

El poder abscisor del ABA podría ser, por tanto, responsable de la abscisión. En efecto, Eccher et al. (2013) demostraron, en el manzano, un incremento de la concentración de ABA en el córtex del pedúnculo del fruto en los frutos que inician la abscisión y no en los que permanecen en el árbol. Los autores sugieren que el ABA coopera temporalmente con otras hormonas y mensajeros en la síntesis de señales internas del fruto que sensibilizan las capas de abscisión. Los resultados de Kojima et al. (1999) correlacionando la concentración de ABA y GAs, y su relación con la abscisión del fruto ratifica este efecto para el caqui, y nuestros resultados son coherentes con ello dado que los frutos desepalados, que son los que caen en mayor proporción, son los que, a su vez, presentan mayor concentración de ABA y menor concentración de GA₁.

Otros reguladores del desarrollo analizados, como es el caso del ácido jasmónico, no muestran correlación con la abscisión de los ovarios de las flores/frutos desepalados. Esta hormona está relacionada con la senescencia de los órganos de modo que su aplicación provoca el envejecimiento rápido de los tejidos (Ueda y Kato, 1982). Su enorme descenso progresivo en el tiempo (de 700 a menos de 100 ng/g) en etapas juveniles del fruto, como es nuestro caso, se ha identificado en otras especies (Fan *et al.*, 1997), y es justo lo contrario a lo que se ha encontrado en relación con la abscisión del fruto recién cuajado en los cítricos, en los que elevadas concentraciones de esta hormona provocan la abscisión (Pozo, 2001). A la vista de ello, el papel del ácido jasmónico en esta fase del desarrollo no parece estar relacionado con la abscisión del fruto recién cuajado.

CONCLUSIÓN

El cuajado del fruto en el cv. Rojo Brillante está regulado por la giberelina GA₁.

La posibilidad de que el ácido abscísico, en interacción con las giberelinas, regule la caída fisiológica de los frutos no puede descartarse, pero debe ser estudiada más profundamente.

BIBLIOGRAFÍA

ADDICOTT, F. T. (1982). *Abscission*. Univ of California Press.

AGUSTÍ, M. (2010). *Fruticultura*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España.

APEL, K., y HIRT, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55: 373-399.

BLANKE, M. M., y LENZ, F. (1989). *Fruitphotosynthesis*. *Plant, Cell & Environment*, 12(1), 31-46.

BLUMENFELD, A., y GAZIT, S. (1972). Gibberellin-like Activity in the Developing Avocado Fruit. *Physiologia Plantarum*, 27: 116-120.

BOSCH, J. (2014). *Influencia de los sépalos en el control hormonal y nutricional del cuajado y desarrollo del fruto del caqui cv. Rojo Brillante*. Trabajo Fin de Grado, ETSIAMN-UPV, Valencia.

CAMPANONI, P., y NICK, P. (2005). Auxin-dependent cell division and cell elongation. 1-Naphthaleneacetic acid and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid activate different pathways. *Plant Physiology*, 137: 939-948.

CIN, V. D., DANESIN, M., BOSCHETTI, A., DORIGONI, A., y RAMINA, A. (2005). Ethylene biosynthesis and perception in apple fruitlet abscission (*Malus domestica* L. Borck). *Journal of Experimental Botany*, 56: 2995-3005.

CLELAND, R. E. (1987). Auxin and cell elongation. In *Plant hormones and their role in plant growth and development*. Springer, Dordrecht. pp. 132-148.

DAVIES, P. J. (2010). The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In *Plant hormones* (pp. 1-15).

FAN, X., MATTHEIS, J. P., FELLMAN, J. K., y PATTERSON, M. E. (1997). Changes in jasmonic acid concentration during early development of apple fruit. *Physiologia Plantarum*, 101: 328-332.

FAOSTAT (2017). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

GARCÍA-PAPÍ, M.A. y GARCÍA-MARTÍNEZ, J.L. (1984). Endogenous plant growth substances content in Young fruits of seeded and seedless Clementine mandarin as related to fruit set and development. *Scientia Horticulturae*, 22: 265 – 274.

ECCHER G., BOTTON A., DIMAURO M., BOSCHETTI A., BENEDETTO R. Y RAMINA A. (2013). Early induction of apple fruitlet abscission is characterized by an increase of both isoprene emission and abscisic acid content. *Plant physiology*, 161: 1952-1969.

GÓMEZ, H., MESEJO, C., MARTÍNEZ-FUENTES, A., AGUSTÍ, M. y REIG, C. (2016). El papel de las giberelinas en el cuajado del níspero japonés (*Eriobotrya japonica* Lindl.). XIV Simp. Metabol. Modo Acción Fitohorm., Valencia. Abstracts: 44-45.

- GOODWIN PB** (1978). Phytohormones and fruit growth. In DS Letham, PB Goodwin, TJ Higgins, eds, *Phytohormones and Related Compounds: A Comprehension Treatise*, Vol 2. - Elsevier-North Holland Biomedical Press, Amsterdam, The Netherlands, pp 175-213.
- HIRANO K., YONEMORI K., y SUGIURA A.** (1995). Involvement of sugar metabolism in persimmon growth-inhibition by calyx lobe removal. *Jst American Society for Horticultural Science*. 120: 75–77.
- ITZHAKI H., MAXSON. JM., y WOODSON. WR.** (1994). An ethylene-responsive enhancer element is involved in the senescence-related expression of the carnation glutathione-S-transferase (GST1) gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91: 8925-8929.
- KOJIMA, K., SHIOZAKI, K., KOSHITA, Y., y ISHIDA, M.** (1999). Changes of endogenous levels of ABA, IAA and GA-like substances in fruitlets of parthenocarpic persimmon. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 68: 242-247.
- MAEDA, S.** (1968). Histological and physiological studies in the calyx of persimmon fruit. *Research Bulletin of the Tokushima Fruit Experiment Station*, 2: 1-20.
- MARTIN, G. C. y R. C. CAMPBELL.** (1976). Hormonal bioassay of French prune (*Prunus domestica* L.) seed and pericarp. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 92: 284-289.
- MESEJO, C., YUSTE, R., REIG, C., MARTÍNEZ-FUENTES, A., IGLESIAS, D.J., MUÑOZ-FAMBUENA, N., BERMEJO, A., GERMANÁ, M.A., PRIMO-MILLO, E., y AGUSTÍ, M.** (2016). Gibberellin reactivates and maintains ovary-wall cell division causing fruit set in parthenocarpic Citrus species. *Plant Science*, 247: 13-24.
- NAKANO, R., YONEMORI, K., y SUGIURA, A.** (1997). Photosynthesis by calyx lobes has no contribution to early fruit development in persimmon. In *Ist International Persimmon Symposium* 436: 345-354.
- NITSCH, J.P.** (1971). Perennation through seeds and other structures: fruit development. In Steward FC, ed, *Plant Physiology, A Treatise*, Vol 6A. Academic Press, London, pp 413-501.
- PAVEL, E. W., y DEJONG, T. M.** (1993). Estimating the photosynthetic contribution of developing peach (*Prunus persica*) fruits to their growth and maintenance carbohydrate requirements. *Physiologia Plantarum*, 88: 331-338.
- POZO, L. V.** (2001). Endogenous hormonal status in citrus flowers and fruitlets: relationship with postbloom fruit drop. *Scientia horticulturae*, 91: 251-260.
- RAGAZZINI, D.** (1985). *El kaki*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España.
- RAM, S.** (1983). Hormonal control of fruit growth and fruit drop in mango cv. Dashehari. *Acta Horticulturae*. 134: 169-178.
- RUAN, Y. L., PATRICK, J. W., BOUZAYEN, M., OSORIO, S., y FERNIE, A. R.** (2012). Molecular regulation of seed and fruit set. *Trends in Plant Science*, 17: 656-665.

- RUPERTI, B., BONGHI, C., TONUTTI P., y RAMINA, A.** (1998). Ethylene biosynthesis in peach fruitlet abscission. *Plant, Cell & Environment*, 21: 731-737.
- SCHAFFER, B. y ANDERSEN, PC.** (1994 a). *Handbook of environmental physiology of fruit crops*. Volume I. *Temperate crops*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, EEUU.
- SCHAFFER, B. y ANDERSEN, PC.** (1994 b). *Handbook of environmental physiology of fruit crops*. Vol. II. *Subtropical and tropical crops*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, EEUU.
- SEO, M., JIKUMARU, Y. y KAMIYA, Y.** (2011). *Profiling of Hormones and Related Metabolites in Seed Dormancy and Germination Studies*. *Methods Mol. Biol.* 773: 99-111.
- SCHWABE, W.W. y MILLS, J.J.** (1981). Hormones and parthenocarpic fruit set: A literature survey. *Hortic. Abstr.* 51: 661-698.
- SCHRUFF, M. C., SPIELMAN, M., TIWARI, S., ADAMS, S., FENBY, N., y SCOTT, R. J.** (2006). The AUXIN RESPONSE FACTOR 2 gene of Arabidopsis links auxin signalling, cell division, and the size of seeds and other organs. *Development*, 133: 251-261.
- SERRANI, J. C., RUIZ-RIVERO, O., FOS, M., y GARCÍA-MARTÍNEZ, J. L.** (2008). Auxin-induced fruit-set in tomato is mediated in part by gibberellins. *The Plant Journal*, 56: 922-934.
- UEDA, J. y KATO, J.** (1982). Identification of jasmonic acid and abscisic acid as senescence-promoting substances from *Cleyera ochracea* DC. *Agricultural and Biological Chemistry*, 46: 1975-1976.
- WILTBANK, W. J., y KREZDORN, A. H.** (1969). Determination of gibberellins in ovaries and young fruits of navel oranges and their correlation with fruit growth. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 94: 195-201.
- YONEMORI, K., HIRANO, K., y SUGIURA, A.** (1995). Growth inhibition of persimmon fruit caused by calyx lobe removal and possible involvement of endogenous hormones. *Scientia Horticulturae*, 61: 37-45.
- YONEMORI, K., ITAI, A., NAKANO, R., y SUGIURA, A.** (1996). Role of calyx lobes in gas exchange and development of persimmon fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121: 676-679.
- YU, Y-B. y YANG, S.F.** (1980). *Biosynthesis of Wound Ethylene*. *Plant Physiol.* 66: 281-285.