

**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA**  
**ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA AGRONÒMICA I DEL**  
**MEDI NATURAL**



**Influencia de las aplicaciones hormonales para el retraso de la recolección en el caqui 'Rojo Brillante' sobre la brotación, desarrollo vegetativo y floración. Técnicas de estímulo.**

**Máster en Ingeniería Agronómica**  
**Trabajo Fin de Máster**

Autora: Laura Gemma García Vega

Tutor: Carmina Reig Valor

Cotutor: Manuel Agustí Fonfría

Valencia, Julio 2017

## **Influencia de las aplicaciones hormonales para el retraso de la recolección en el caqui 'Rojo Brillante' sobre la brotación, desarrollo vegetativo y floración. Técnicas de estímulo.**

### **Resumen**

Tras el retraso de la recolección del caqui promovido por la aplicación de ácido giberélico y sales de calcio, se ha observado un decaimiento generalizado en el vigor del árbol que repercute negativamente en la brotación y floración siguiente y, por consiguiente, en la cosecha. El objetivo de este trabajo es estudiar si este declive en el crecimiento vegetativo puede recuperarse con la aplicación de la hormona y compuestos nitrogenados y cuál es su comportamiento nutricional. Para ello, se ha realizado un seguimiento del crecimiento vegetativo de 5 brotes en cada uno de los 20 árboles, siendo 10 de estos tratados en otoño (30 de septiembre, 24 de octubre y 8 de noviembre) con AG para retrasar la recolección. A una parte de estos árboles se les aplicó adicionalmente en el momento de la brotación (28 de marzo) una mezcla de AG(2.5g) y un compuesto nitrogenado (28% N), y también a otros de los que en otoño habían sido control, y se repitió 35 días después (2 de mayo). Siete árboles se mantuvieron como control. Periódicamente se midió la longitud de los brotes, y se muestrearon yemas, y hojas y flores para analizar la calidad de las yemas mediante microscopía óptica y su contenido nutricional.

**Palabras clave:** Ácido giberélico. Desarrollo vegetativo. Floración. Producción.

**Influence of hormonal treatment for harvest delay of 'Rojo Brillante' persimmon on sprouting, vegetative development and flowering. Stimulation techniques.**

**Abstract**

Currently, after the persimmon harvesting delay promoted by the gibberellic acid and calcium salts, it has been observed the general decay in the vigor that affects negatively in the next sprouting and flowering and therefore, in the harvesting. The goal of this paper is to study if this decline in the vegetative development could normalize with the hormone application and nitrogenous compounds and which is its nutritional behavior. In order to this, it has been done a vegetative development monitoring of 5 buds in each of the 20 trees, being 10 of these trees treated in autumn (30<sup>th</sup> September, 24<sup>th</sup> October and 8<sup>th</sup> November) with GA to delay the harvest. In the sprouting (28<sup>th</sup> March), it has been applied in a part of these trees a mixture of GA (2.5g) and nitrogenous compound (28%N), and also to other trees that were kept as a control in autumn, and this process was repeated again 35 days later (2<sup>nd</sup> May). Seven trees were kept as a total control. Periodically it was measured the sprout length, and it was sampled the buds, leaves and flowers to analyze the buds quality by means of optic microscopy and their nutritional contents.

**Keywords:** Gibberellic acid. Vegetative development. Flowering. Production.

**Alumna:** Laura Gemma García Vega

**Tutor Académico:** Prof. Dña. Carmina Reig Valor

**Cotutor Académico:** Prof. D. Manuel Agustí Fonfria

Valencia, Julio 2017

## AGRADECIMIENTOS

Gracias,

A Manolo y Carmina, porque con vosotros he aprendido algo muy importante y que me quedo para siempre, y es el haber visto lo importante y bonito que es trabajar con esa pasión que lo hacéis vosotros. Además, gracias por vuestra paciencia y dedicación, sin vuestra ayuda no habría sido lo mismo.

A Carlos y Amparo por su entrega y perseverancia en el laboratorio y por ofrecerse a prestar ayuda en todo momento.

A mis compañeros de este trabajo, con los que las visitas a campo han sido mucho más divertidas.

A mis compañeros del máster y grado, con los que he compartido la mejor etapa de mi vida y con los que he aprendido tantas cosas que nunca olvidaré. Ellos han hecho de esta etapa la más especial.

A mi familia, por la educación que me han dado y por estar conmigo en todo momento, ser un pilar fundamental y apoyarme en todos los aspectos de mi vida, todo ha sido más fácil con su ayuda. En especial a Alba, Cris y Carla, mis hermanas, además de las mejores amigas que se puede tener, ellas han sido mis consejeras y las que siempre están dispuestas a escuchar.

A Joaquín, por hacer de esta etapa algo muy especial.

A Elena, la primera persona que conocí en la carrera y con la que hasta hoy he compartido cada una de mis mejores aventuras de vida siendo inseparables desde aquel día.

*“Ignore the rain, look for the rainbow”*



---

# ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN: .....	1
1.1- LA MADURACIÓN DE LOS FRUTOS CLIMATÉRICOS:.....	1
1.2- TÉCNICAS AGRONÓMICAS PARA RETRASAR LA MADURACIÓN DEL CAQUI:.....	1
1.2.1.- Aplicación de sales nitrogenadas (Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ).....	1
1.2.2.- Aplicación de AG .....	2
1.3- TÉCNICAS AGRONÓMICAS PARA ADELANTAR LA MADURACIÓN DEL CAQUI:.....	2
1.4- FACTORES QUE CONTROLAN EL CRECIMIENTO VEGETATIVO:.....	3
1.4.1.- Efecto del tiempo de permanencia del fruto en el árbol .....	3
1.4.2.-Aplicación de fitorreguladores .....	3
2. OBJETIVOS:.....	4
3. MATERIAL Y MÉTODOS: .....	5
3.1 MATERIAL VEGETAL .....	5
3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL Y TOMA DE MUESTRAS.....	5
3.3 DETERMINACIONES ANALÍTICAS:.....	6
3.3.1 Hojas, flores y frutos .....	6
3.3.2 Análisis de azúcares .....	7
3.4 MICROSCOPÍA: .....	7
4. RESULTADOS: .....	9
4.1 EFECTO DEL AG APLICADO AL INICIO DE LA BROTACIÓN SOBRE EL DESARROLLO VEGETATIVO Y REPRODUCTIVO .....	9
4.2 INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE AG PARA EL RETRASO DE LA MADURACIÓN Y PARA EL ESTÍMULO DE LA BROTACIÓN EN EL BALANCE DE CARBOHIDRATOS: .....	18
5. DISCUSIÓN: .....	24
6. CONCLUSIONES: .....	27
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS: .....	28

## ÍNDICE DE FIGURAS:

<b>Figura 1.</b> Distribución del experimento de árboles de caqui “Rojo Brillante” con los tratamientos efectuados en otoño, y los efectuados, posteriormente, en primavera. ....	5
<b>Figura 2.</b> Distribución del momento de desarrollo y actuaciones en campo. Para retrasar la maduración se efectuaron 3 tratamientos sobre los mismos árboles (30 de septiembre, 24 de octubre y 8 de noviembre de 2016). Para estimular la brotación se efectuaron 2 tratamientos (28 de marzo y 2 de mayo de 2017).....	6
<b>Figura 3.</b> Evolución histológica de las yemas mixtas del caqui. Influencia de la aplicación de ácido giberélico (AG, 50 mg l <sub>-1</sub> ), tres veces antes y durante el cambio de color del fruto. Las flechas indican la presencia de yemas axilares. P: primordio foliar. X40 indican los aumentos.....	10
<b>Figura 4.</b> Evolución histológica de las yemas mixtas del caqui. Influencia de la aplicación de ácido giberélico (AG, 50 mg l <sub>-1</sub> ), tres veces antes y durante el cambio de color del fruto. Las flechas indican la presencia de yemas axilares. P: primordio foliar. X100 indican los aumentos.....	11
<b>Figura 5.</b> Evolución de la longitud de los brotes de árboles de caqui “Rojo Brillante”, tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l <sup>-1</sup> ) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l <sup>-1</sup> ) para promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Cada valor es la media de 15 brotes. La flecha indica el momento de la antesis (28 abril). Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017.....	12
<b>Figura 6.</b> Longitud de los brotes de árboles de caqui “Rojo Brillante”, tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l <sup>-1</sup> ) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l <sup>-1</sup> ) para promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Valores correspondientes al 12 de junio, cuando los frutos estaban en fase de desarrollo. Cada valor es la media de 15 brotes. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017. ....	13
<b>Figura 7.</b> Peso medio de las hojas de árboles de caqui “Rojo Brillante”, tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l <sup>-1</sup> ) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l <sup>-1</sup> ) para promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Valores correspondientes al 12 de junio y 10 de julio, cuando los frutos estaban en fase de desarrollo. Cada valor es la media de 15 brotes. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017.....	14
<b>Figura 8.</b> Evolución del peso de las flores y frutos de árboles de caqui “Rojo Brillante”, tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l <sup>-1</sup> ) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l <sup>-1</sup> ) para promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Cada valor es la media de, al menos, 3 flores por tratamiento. La primera flecha indica el momento de la antesis (28 abril). La segunda flecha indica el segundo tratamiento con AG (2 de mayo). La tercera flecha indica el momento del cuajado (12 de mayo). Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017. ....	15
<b>Figura 9.</b> Número de frutos por ramo mixto de árboles de caqui “Rojo Brillante”, tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l <sup>-1</sup> ) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l <sup>-1</sup> ) para promover el desarrollo (AG-AG), AG sólo en primavera (C+AG, 25 mg l <sup>-1</sup> ) y sin tratar. Valores correspondientes al 12 de junio y 10 de julio, cuando los frutos estaban en fase de desarrollo. Cada valor es la media de 30 medidas. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017.....	16
<b>Figura 10.</b> Número de células por milímetro de árboles de caqui “Rojo Brillante”, tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l <sup>-1</sup> ) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l <sup>-1</sup> ) para	

promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Valores correspondientes al 12 de mayo, cuando los frutos estaban recién cuajados. Cada valor es la media de 30 medidas. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017. .... 17

**Figura 11.** Evolución del contenido en fructosa de las flores de caqui “Rojo Brillante” tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017. .... 18

**Figura 12.** Evolución del contenido en glucosa de las flores de caqui “Rojo Brillante” tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017. .... 19

**Figura 13.** Evolución del contenido en sacarosa de las flores de caqui “Rojo Brillante” tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017. .... 20

**Figura 14.** Evolución del contenido en fructosa de las hojas de caqui “Rojo Brillante” tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017. .... 21

**Figura 15.** Evolución del contenido en glucosa de las hojas de caqui “Rojo Brillante” tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017. .... 22

**Figura 16.** Evolución del contenido en sacarosa de las hojas de caqui “Rojo Brillante” tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017. .... 23

**ÍNDICE DE TABLAS:**

**Tabla 1.** Características de las hojas y los brotes en el momento de la antesis (28 abril), de árboles de caqui “Rojo Brillante” tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l<sup>-1</sup>) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l<sup>-1</sup>) para promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Cada valor es la media de 15 determinaciones, salvo el peso de la hoja, que es la media de 30 hojas por tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017. .... 12

# **INTRODUCCIÓN**

## **1.- INTRODUCCIÓN:**

### **1.1- LA MADURACIÓN DE LOS FRUTOS CLIMATÉRICOS:**

La maduración es la etapa previa a la senescencia en la que se producen cambios externos en el fruto de sabor y textura, confiriéndole las correctas propiedades organolépticas y nutricionales para el consumo y preparándolo para la diseminación de las semillas (Agustí, 2000; Alférez, 2001). Además, entre otros cambios físico-químicos tiene lugar la pérdida de firmeza, la coloración del pericarpio, la conversión de almidón en azúcares de consumos inmediato y la reducción de la concentración de ácidos.

Los frutos climatéricos durante su crecimiento acumulan almidón que en el momento de la maduración hidrolizan hasta monosacáridos, necesitando para ello una gran cantidad de energía y que conlleva a un aumento de la tasa respiratoria conocido como el climaterio (Biale y Young, 1981).

Este aumento de la tasa respiratoria es irreversible y viene promovido por un previo incremento en la concentración de etileno en los espacios intercelulares del mesocarpo. Aunque el etileno está presente en todos los frutos, climatéricos o no, su aplicación exógena mediante liberadores de etileno (ethephon) a concentraciones de 0.1 ppm puede desencadenar el climaterio en frutos climatéricos todavía inmaduros (Brady, 1987).

Todos los cambios producidos en el fruto durante su maduración están regulados por el etileno que actúa de manera diferente. Así, el cambio de color varía según la degradación de unos pigmentos y la síntesis y acumulación de otros mientras que el reblandecimiento de los tejidos se produce por la hidrólisis gradual de los compuestos pécticos de las paredes celulares (Fisher y Bennet, 1991).

Finalmente se produce una acumulación masiva de azúcares, sobre todo glucosa y fructosa a la vez que desciende la concentración de ácidos solubles debido a su dilución y metabolización.

### **1.2- TÉCNICAS AGRONÓMICAS PARA RETRASAR LA MADURACIÓN DEL CAQUI:**

#### **1.2.1.- Aplicación de sales nitrogenadas (Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)**

La aplicación de esta sal antes del cambio de color del fruto retrasa el reblandecimiento de los tejidos en frutos como el tomate (Wills y et al., 1997) y las mandarinas (Jackson y et al 1992). La acción del Ca retrasando la producción de etileno y, por tanto, la senescencia del fruto se ha estudiado en numerosas especies frutales como las manzanas (Bangerth et al., 1972), aguacates (Wills y Tirmazi, 1982) y tomates (Moline, 1980).

La aplicación de nitrato cálcico  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , a una concentración del 2%, un mes antes del cambio de color del fruto, también retrasa su entrada en color, reduce el reblandecimiento de los tejidos, la producción de etileno y el deterioro del fruto en etapas posteriores a la cosecha, disminuyendo la eficacia con el retraso del tratamiento (Agustí *et al.*, 2004).

### **1.2.2.- Aplicación de AG**

La aplicación de ácido giberélico retrasa el climaterio, la senescencia de los tejidos (Ben-Arie *et al.*, 1996; Gambetta *et al.*, 2014) y el cambio de color retardando la pérdida de clorofilas y la síntesis de carotenoides (Lurie, 2000). Este efecto se ha demostrado diversos frutos como la fresa (Martínez *et al.*, 1996), el tomate (Dostal y Leopold, 1967), la naranja (Gambetta *et al.*, 2014), la uva (Guelfat-Reich y Safran, 1973) y la mandarina (García-Luis *et al.*, 1986).

También en el caso del caqui la técnica resulta eficaz. En este caso la concentración óptima son 30 (mg/l) y la época, aproximadamente, veinticinco días antes del cambio de color. Con ello se consigue un retrasar entre 10 y 15 días la coloración de los frutos del cv. Rojo Brillante (Agustí, 2004).

Además, la aplicación repetida del tratamiento, hasta tres veces con una separación de 15-20 días, y a una concentración de 50  $\text{mg.l}^{-1}$  aumenta el retraso en la coloración del fruto hasta veinticuatro días (Ventura, 2017).

### **1.3- TÉCNICAS AGRONÓMICAS PARA ADELANTAR LA MADURACIÓN DEL CAQUI:**

La característica más notable de los frutos climatéricos es el proceso autocatalítico del etileno, esto es, su capacidad para activar la síntesis de su precursor (ácido 1-aminicopropano-1-carboxílico, ACC) y la oxidación de éste, dando lugar a un proceso retroalimentado. Esta característica se puede aprovechar para acelerar el proceso de maduración de este tipo de frutos. En efecto, la aplicación en cámara de gas etileno tras la recolección, o la aplicación en el campo de sustancias que una vez metabolizadas liberan etileno, como es el caso del ethephon (ácido 2-cloroetilfosfónico) cuando los frutos están iniciando el cambio de color, promueve el climaterio y, en consecuencia, acelera la coloración, de modo que una semana después del tratamiento el efecto es claramente visible, al mismo tiempo, que el fruto reblandece sus tejidos. La respuesta es óptima para una concentración de 15  $\text{mg l}^{-1}$ . (Mir *et al.*, 1999; Wang y Dilley, 2001).

## **1.4- FACTORES QUE CONTROLAN EL CRECIMIENTO VEGETATIVO:**

### **1.4.1.- Efecto del tiempo de permanencia del fruto en el árbol**

La relación entre la permanencia del fruto en el árbol a partir de etapas próximas a completar su tamaño y la floración es inversamente proporcional. Con el descenso de la floración, siguió la misma tendencia decreciente la brotación, siendo más sensibles al efecto inhibitor del fruto las yemas de brotes reproductivos (con o sin hojas), sin modificarse por la presencia de los frutos las características de las flores, siendo esto el número de flores y/o hojas por brote.

Por lo tanto, existe un efecto directo del fruto sobre la yema que le impide brotar, pero si evita este efecto, podrá brotar y por consiguiente desarrollar flores (Lang, 1965), siendo finalmente lo que provoca la presencia del fruto una alteración en el número de yemas que brotan, no el número de flores por yema brotada.

### **1.4.2.-Aplicación de fitorreguladores**

El AG, como regulador del desarrollo que es, controla diversos procesos fisiológicos en árbol como la brotación. Así se ha demostrado en numerosas especies como las fresas (Thompson y Gruttridge, 1959), manzanas (Fulford, 1960) y albaricoques (Bradley y Crane, 1960). Complementariamente estimula el desarrollo vegetativo de los brotes, y con ello, indirectamente la floración. Así se ha visto en la soja cuyos brotes eran más largos y con mayor superficie foliar (Leite et al., 2003) y también en espinaca (Kong et al., 2006)

Por otra parte, la inhibición de la floración atribuida al efecto de esta hormona, está ligada, entre otros factores y dependiendo de la especie, a la elongación del tallo (King y Ben-Tal, 2001, McDaniel, 1991), que bloquea indirectamente el fenómeno de la floración aumentando, por el contrario, los tejidos vegetativos (Sachs, 1977), pero siendo de una manera mucho menos efectiva que la del ácido giberélico (TFG Giménez, 2017).

También las citoquininas regulan el proceso de la brotación y crecimiento de los brotes. La aplicación de Promalin® (10 ppm) en el momento de la brotación estimula el desarrollo de los brotes aumentando el número de entrenudos e, indirectamente el de flores, en especies como el manzano (Shank, 1985).

# **OBJETIVOS**

## **2. OBJETIVOS:**

El objetivo de este trabajo es estudiar la influencia que la aplicación de AG para el retraso de la recolección tiene en la deficiente brotación y floración bajo el punto de vista nutricional y si esta se puede mejorar con otra aplicación de AG en el momento del desborre.

# **MATERIAL Y MÉTODOS**

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS:

#### 3.1 MATERIAL VEGETAL

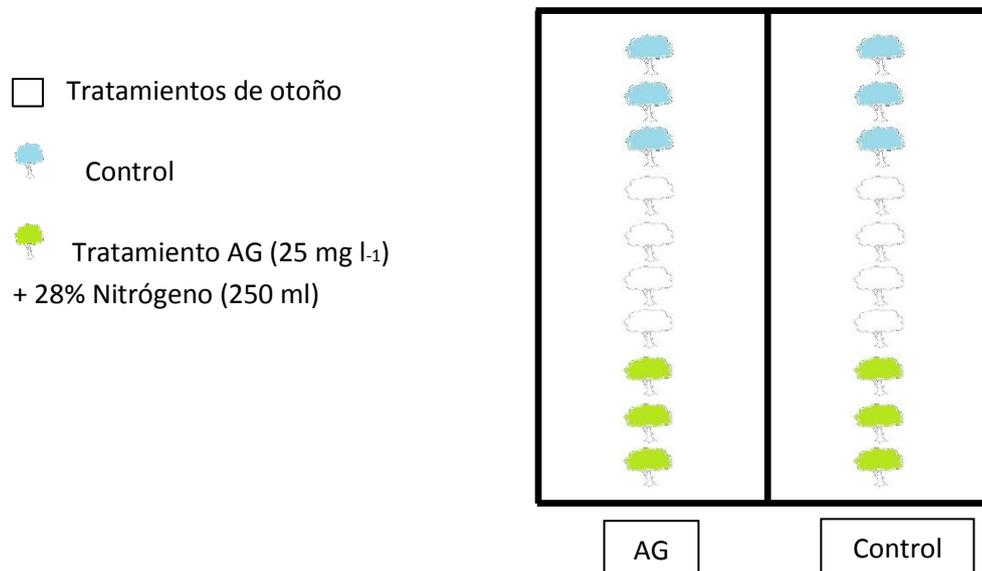
Nuestro experimento se realizó sobre árboles adultos de caqui (*Diospyros kaki* L.), cv. Rojo Brillante injertados sobre patrón *D. lotus*, en plena producción y bajo condiciones óptimas de cultivo.

La parcela está situada en el término municipal de L'Alcudia (Valencia), con suelo franco-arcilloso y riego por goteo.

#### 3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL Y TOMA DE MUESTRAS

Para el diseño realizado, al azar, de nuestro experimento se han utilizado 20 árboles (Figura 1). Diez árboles se consideraron control y en los otros 10 se realizaron 3 aplicaciones de AG (50 mg l<sup>-1</sup>) en septiembre, octubre y noviembre, con el fin de retrasar la maduración del fruto.

Posteriormente, para estimular la brotación de las plantas, se realizaron dos aplicaciones de AG (25 mg l<sup>-1</sup>) + Nitrógeno (2.5 ‰) en marzo y mayo sobre algunos de los árboles control y tratados anteriormente (otoño de 2016).



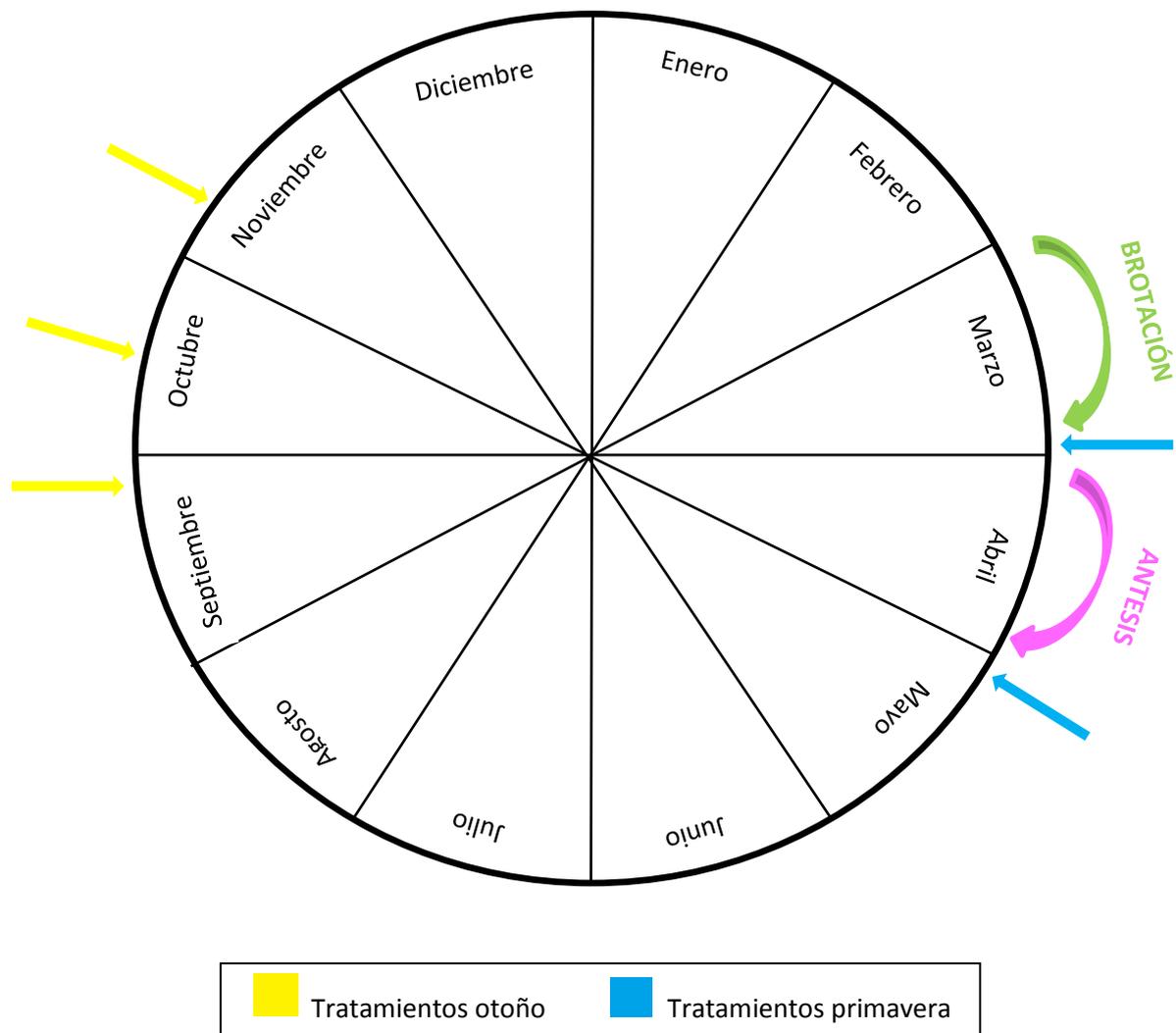
**Figura 1.** Distribución del experimento de árboles de caqui "Rojo Brillante" con los tratamientos efectuados en otoño, y los efectuados, posteriormente, en primavera.

### 3.3 DETERMINACIONES ANALÍTICAS:

#### 3.3.1 Hojas, flores y frutos

Una vez aplicado el tratamiento de primavera para estimular la brotación (28 de marzo) y hasta que el fruto está recién cuajado, se realizaron muestreos de hojas y flores con una frecuencia de 7-12 días. Por una parte, se cogieron 10 hojas al azar de cada árbol, luego se pesaron en una balanza común (METTLER TOLEDO), y más tarde se obtuvo la superficie foliar media por cada brote y tratamiento mediante una correlación con el peso medio obtenido por tratamiento y su área a través del programa "Digimizer". Por otra parte, también se realizó un muestreo de 1 a 6 flores por árbol pesándose a continuación en una balanza de precisión (KERN & Sohn GmbH, D-72336 Balingen, Germany). Además, se midió la longitud de 5 brotes de cada árbol mediante un flexómetro.

En la figura 2, se detallan las épocas de los tratamientos y las diferentes aplicaciones.



**Figura 2.** Distribución del momento de desarrollo y actuaciones en campo. Para retrasar la maduración se efectuaron 3 tratamientos sobre los mismos árboles (30 de septiembre, 24 de octubre y 8 de noviembre de 2016). Para estimular la brotación se efectuaron 2 tratamientos (28 de marzo y 2 de mayo de 2017).

### 3.3.2 Análisis de azúcares

El análisis de azúcares solubles se realizó según el protocolo de Eshghi et al. (2007) con modificaciones. A partir de las muestras de frutos liofilizadas y trituradas, se tomaron alícuotas por duplicado de cada una (100 mg) y se introdujeron en tubos de centrifuga, debidamente etiquetados, a los que se añadieron 5 ml de Petroleum ether (40-60°). Las alícuotas fueron centrifugadas (4000 rpm, 4° C, 7 min) y el extracto de Petroleum, conteniendo los lípidos, clorofilas y otros contaminantes, fue eliminado mediante pipeteo cuidadoso; a la muestra restante se añadieron 100 µl de manitol, un azúcar no existente en los tejidos vegetales y que se usa como estándar para cuantificar las 14 pérdidas del resto de azúcares durante el proceso de extracción y purificación de los mismos, y posteriormente se realizaron dos extracciones sucesivas con etanol 80% (v/v): las muestras con el etanol se incubaron a 65° C durante 20 min y se centrifugaron (4000 rpm, 4° C, 7 min) retirando el sobrenadante; de la fase sólida restante se realizó una re-extracción y posteriormente se juntaron ambos sobrenadantes que se llevaron a sequedad en Speed Vac Concentrator (Savant®) (Savant Instruments, INC., Hicksville, NY, USA).

Se añadieron 4 ml de agua Milli-Q al residuo seco para la dilución de los azúcares. Para homogeneizarlo, la dilución se incubaron 20 min con sucesivas pasadas de vórtex. Se añadieron 20-30 mg de Activated Charcoal a las muestras y posteriormente se centrifugaron (4000 rpm, 4° C, 10 min). El sobrenadante se recogió y se filtró a través de filtros de nylon 0,45 µm. Las muestras se llevaron a sequedad en Speed Vac.

Las muestras fueron diluidas en 100 µl de agua Milli-Q para su posterior inyección en un equipo de detección Spectra System® (Spectra, San Jose, CA, EEUU) conectado a un refractómetro diferencial (Spectra R150), una bomba de vacío (Spectra P2000), y a una base de datos ChromQuest® Chromatography Data System for Windows NT (Thermo Quest Inc., San Jose, CA, EEUU) y equipado con una columna Hypersil® APS-2 (250 x 4.6 mm) (Thermo Quest Inc., San Jose, CA, EEUU). La columna se mantuvo a 85° C en un horno y como solvente se utilizó agua Milli-Q a un flujo de 0.5 ml min<sup>-1</sup>. Los azúcares presentes en las muestras fueron identificados y cuantificados según sus tiempos de retención, y las curvas de calibración realizadas previamente con las diferentes concentraciones de azúcares estándar. Cada muestra fue extraída por duplicado e inyectada dos veces. Los resultados se expresan como mg g<sup>-1</sup> de peso seco.

### 3.4 MICROSCOPIA:

Se muestrearon 3 yemas al azar de árboles de caqui "Rojo Brillante" en el control y el tratado en fechas diferentes (21 de diciembre, 1 de febrero, 13 de marzo y 22 de marzo) para observar la evolución. En cada una de estas yemas, se realizó un corte longitudinal.

En primer lugar, tras coger las yemas se realizó la fijación de sus tejidos con FPA (900 cm<sup>3</sup> de etanol al 70%, 50 cm<sup>3</sup> de ácido propiónico y 50 cm<sup>3</sup> de formaldehído) durante 24 horas a 4°C. Tras ese tiempo, se procedió a su conservación en etanol al 70% a 4°C durante 3 meses. Después se hizo la inclusión en parafina, que consiste en reemplazar toda el agua contenida en los tejidos celulares por parafina. Para realizar la inclusión, primero se extrajo el agua de las células por deshidratación con alcohol y luego se realizó la inclusión en cápsulas de parafina solidificada, dejando solidificar a temperatura ambiente.

A partir de las muestras así preparadas, se realizaron secciones de 8 µm de espesor con un micrótopo "Microm HM 400". Las secciones se colocaron en un portaobjetos utilizando 3-aminopropyl-triothoxylane como adherente.

Una vez realizados los cortes con el micrótopo, es necesario hidratarlos para su coloración, siguiendo los siguientes pasos:

- Desparafinar en xileno, 2 x 5 minutos.
- Rehidratar hasta 50% de etanol (100%, 96%, 70%, 50%, 5 minutos cada una).
- Cubrir las secciones con Safranina (1%) , de 30 minutos a una hora.
- Limpiar con agua destilada.
- Cubrir con Anilina azul (previamente diluida en agua destilada) durante 3 minutos.
- Limpiar con agua destilada.
- Deshidratar las secciones con series de etanol pasando rápidamente de 30%, 70%, 96% y 100% de etanol con una duración máxima en su totalidad de 3 minutos.
- Sumergir en xileno, 2 x 5 minutos.

Las secciones ya preparadas se examinaron y fotografiaron con un microscopio "Nikon" modelo Eclipse E600, equipado con un adaptador fotográfico.

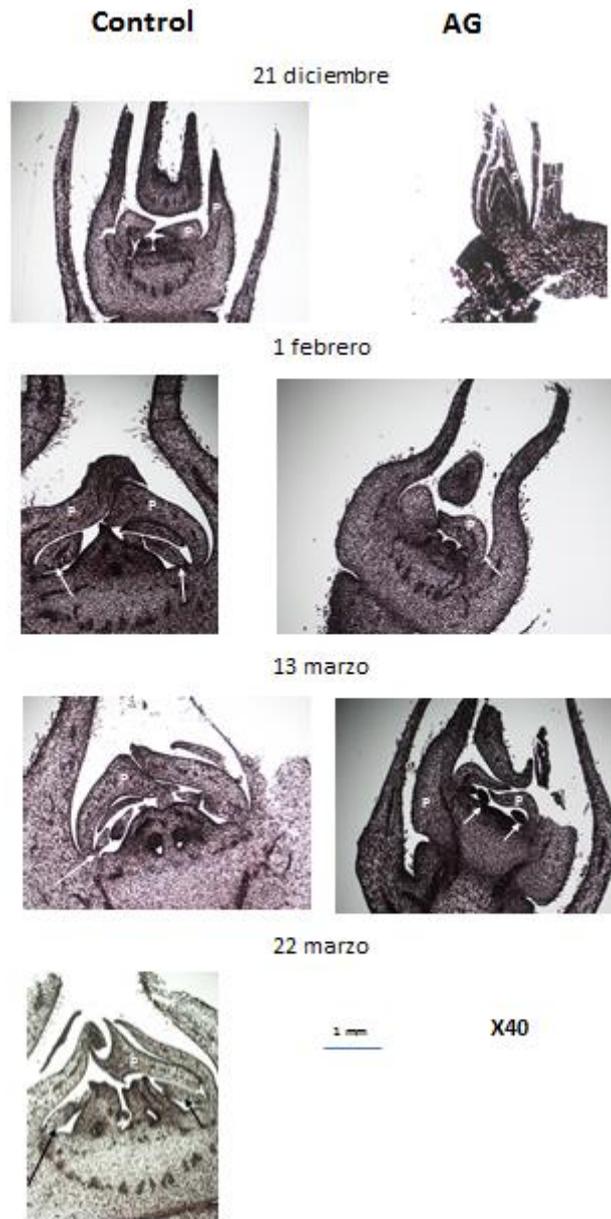
# **RESULTADOS**

## **4. RESULTADOS:**

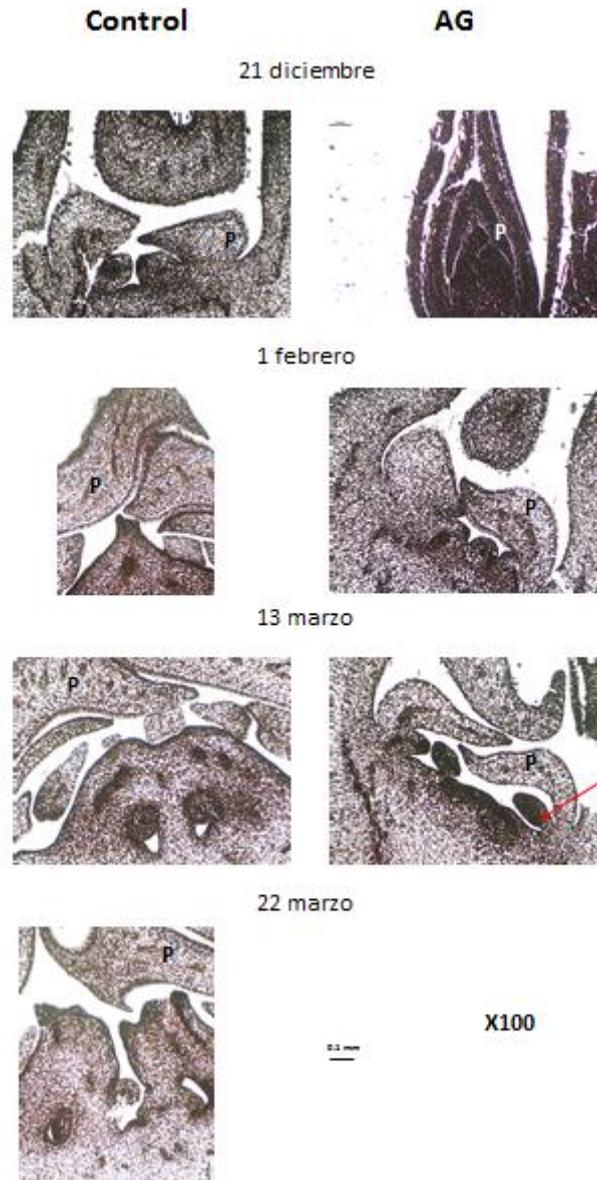
### **4.1 EFECTO DEL AG APLICADO AL INICIO DE LA BROTAÇÃO SOBRE EL DESARROLLO VEGETATIVO Y REPRODUCTIVO**

El retraso en la senescencia y abscisión de las hojas provocado por la aplicación de ácido giberélico para posponer la recolección acarreoó, a su vez, un retraso de la entrada en latencia de las yemas. Dado que la ecolatencia está regida por las condiciones ambientales (temperatura, sobre todo), el retraso conllevó un acortamiento de los períodos de paralatencia y endolatencia, con la consiguiente pérdida de acumulación de horas frío y la rotura deficiente de la latencia.

Así, a finales de diciembre cuando las yemas más avanzadas de los árboles control sin tratar ya mostraban la apertura de los primeros primordios foliares, en las de los árboles tratados con AG éstos se encontraban todavía completamente cerrados (Figura x). Un mes más tarde, a principios de febrero, ya eran visibles las yemas axilares en las yemas mixtas de los árboles control, pero no en las de los tratados con AG para retardar la maduración, que se mostraron visibles a mediados de marzo, esto es, un mes y medio más tarde (Figurax ). Este retraso en el desarrollo de las yemas y en el período de latencia se mantuvo hasta el momento de la brotación.

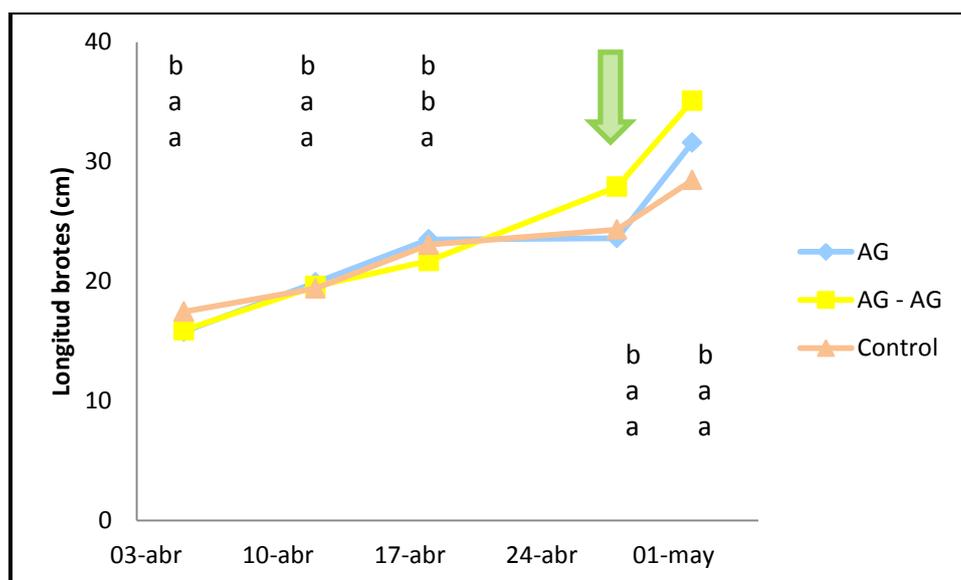


**Figura 3.** Evolución histológica de las yemas mixtas del caqui. Influencia de la aplicación de ácido giberélico (AG, 50 mg l<sup>-1</sup>), tres veces antes y durante el cambio de color del fruto. Las flechas indican la presencia de yemas axilares. P: primordio foliar. X40 indican los aumentos.



**Figura 4.** Evolución histológica de las yemas mixtas del caqui. Influencia de la aplicación de ácido giberélico (AG, 50 mg l<sup>-1</sup>), tres veces antes y durante el cambio de color del fruto. Las flechas indican la presencia de yemas axilares. P: primordio foliar. X100 indican los aumentos.

Sin embargo, el tratamiento con 25 mg l<sup>-1</sup> de AG al inicio de la brotación consiguió aumentar la longitud de los brotes en el momento de la antesis. Asimismo, los brotes de los árboles control y tratados en otoño con AG medían 24.3 cm y 23.6 cm, respectivamente, los de los árboles tratados con AG en otoño y al inicio de la brotación medían 27.9 cm, y esta diferencia se mantuvo en el tiempo (Figura 5).



**Figura 5.** Evolución de la longitud de los brotes de árboles de caqui “Rojo Brillante”, tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l-1) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l-1) para promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Cada valor es la media de 15 brotes. La flecha indica el momento de la antesis (28 abril). Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017.

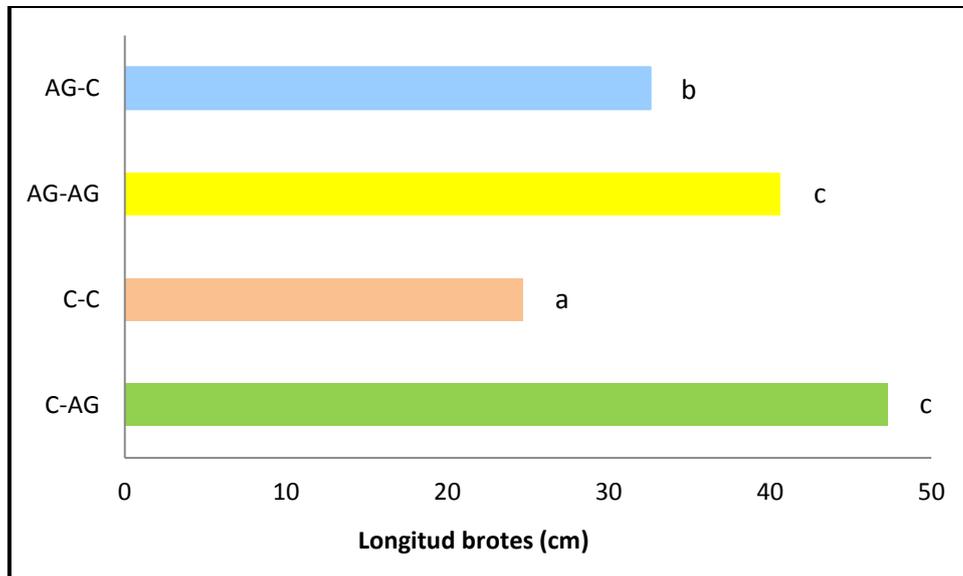
Los tratamientos al inicio de la brotación, tratados a su vez para retrasar la recolección, no consiguieron modificar la longitud de los entrenudos, el número de éstos y el número de hojas por brote, cuando se compararon con los árboles control y tratados sólo para retrasar la recolección (Tabla 1). Sin embargo, el peso de las hojas y la superficie foliar de los árboles tratados al inicio de la brotación, y que también lo habían sido para retrasar la recolección, fueron significativamente mayores que los de los árboles tratados sólo para retrasar la recolección (Tabla 1).

	Control	AG -AG	AG -AG
<b>Nº hojas/brote</b>	8,8 ± 0,3 a	9,9 ± 0,6 a	9,4 ± 0,5 a
<b>Nº de entrenudos/brote</b>	7,8 ± 0,3 a	8,9 ± 0,6 a	8,4 ± 0,5 a
<b>Longitud entrenudos (cm)</b>	3,0 ± 0,1 a	3,2 ± 0,2 a	2,9 ± 0,2 a
<b>Peso/hoja (g)</b>	2,7 ± 0,1 b	2,3 ± 0,2 ab	2,1 ± 0,1 a
<b>Superficie foliar/brote ( cm )</b>	530,6 ± 17,2 a	517,8 ± 31,6 a	454,0 ± 24,9 a

**Tabla 1.** Características de las hojas y los brotes en el momento de la antesis (28 abril), de árboles de caqui “Rojo Brillante” tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l-1) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l-1) para promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Cada valor es la media de 15 determinaciones, salvo el peso de la hoja, que es la media de 30 hojas por tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017.

Un mes y medio (12 junio), después de la antesis, cuando el fruto estaba en desarrollo, los brotes de los árboles tratados con AG en primavera, hubieran sido tratados o no para retardar la

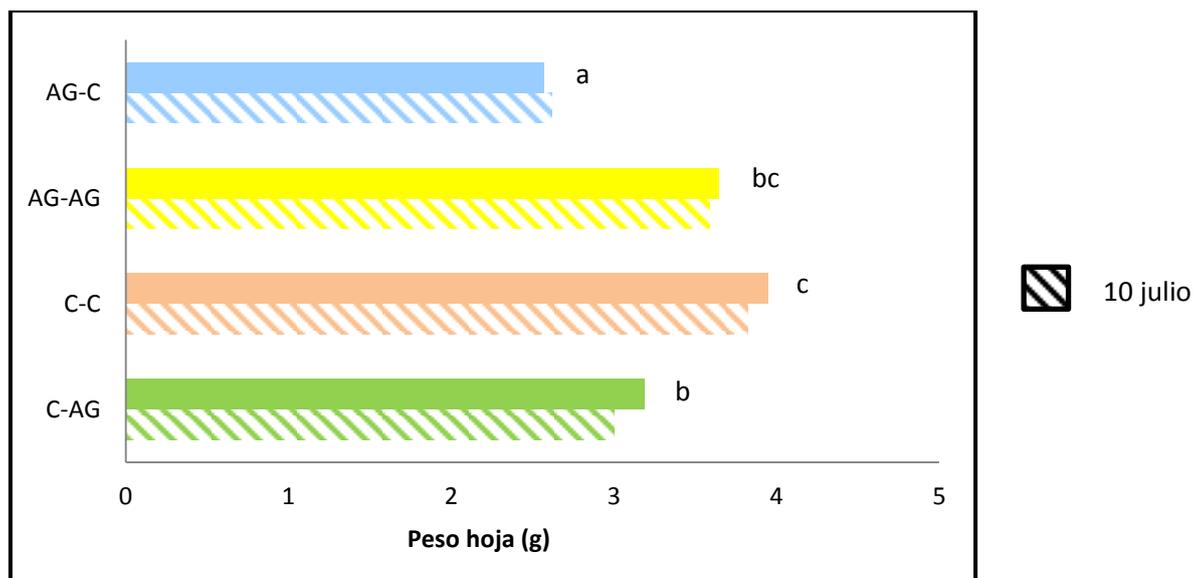
recolección, eran significativamente más largos que los brotes de los árboles control y los de los árboles tratados con AG para retrasar la recolección (Figura 6).



**Figura 6.** Longitud de los brotes de árboles de caqui “Rojo Brillante”, tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l<sup>-1</sup>) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l<sup>-1</sup>) para promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Valores correspondientes al 12 de junio, cuando los frutos estaban en fase de desarrollo. Cada valor es la media de 15 brotes. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017.

El peso de las hojas de los árboles tratados al inicio de la brotación, alcanzaron al de las hojas de los árboles control, siendo significativamente mayor que el peso de las hojas de los árboles tratados para retrasar la recolección cuando el fruto ya había iniciado su fase de crecimiento lineal. Y estas diferencias se mantuvieron con el tiempo (Figura 7).

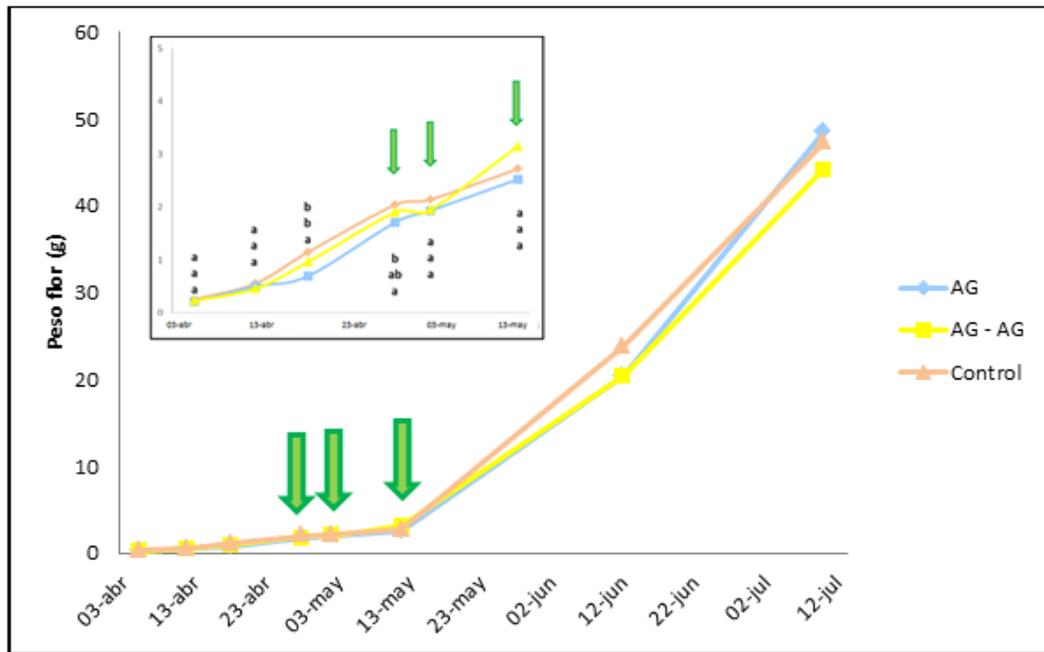
Estos resultados, de nuevo, son coincidentes con los observados por Guardiola *et al.* (1980) en naranjo dulce que aumentaron el peso de las hojas y su distribución poblacional como consecuencia de la aplicación de 10 mg l<sup>-1</sup> de AG.



**Figura 7.** Peso medio de las hojas de árboles de caqui "Rojo Brillante", tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l<sup>-1</sup>) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l<sup>-1</sup>) para promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Valores correspondientes al 12 de junio y 10 de julio, cuando los frutos estaban en fase de desarrollo. Cada valor es la media de 15 brotes. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017.

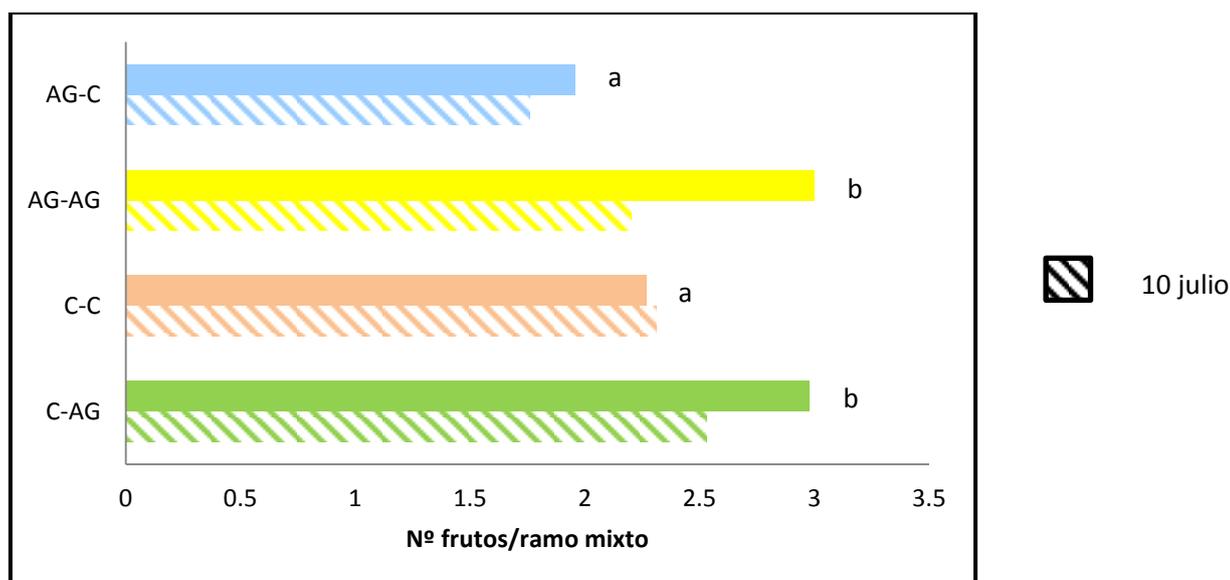
Del mismo modo, la aplicación de AG al inicio de la brotación, consiguió elevar el peso medio de las flores, que en el momento de la antesis, no difirió significativamente del de las flores de los árboles control, pero sí del peso de las flores de los árboles tratados para retrasar la recolección (Figura 8).

Dos semanas tras la antesis, el peso de las flores de los árboles tratados con AG en primavera, era ya significativamente mayor que el de las flores de los árboles control y tratados sólo para retrasar la recolección, pero con el tiempo, estas diferencias se invirtieron y, a mediados de junio, las flores de los árboles control, presentaban el peso más elevado y significativamente distinto de las flores de los árboles tratados para retrasar la recolección, hubieran sido o no tratados con AG al inicio de la brotación. Un mes más tarde, los frutos de los árboles tratados con AG para retrasar la recolección eran los de mayor peso y los tratados además con AG en primavera los más pequeños. Los frutos de los árboles no diferían significativamente de los primeros (Figura 8).



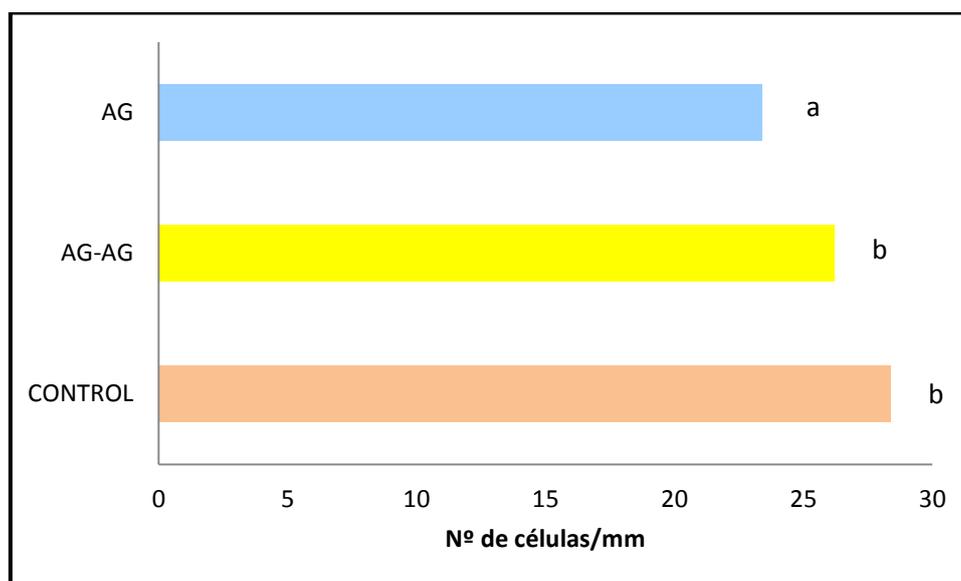
**Figura 8.** Evolución del peso de las flores y frutos de árboles de caqui “Rojo Brillante”, tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l<sup>-1</sup>) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l<sup>-1</sup>) para promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Cada valor es la media de, al menos, 3 flores por tratamiento. La primera flecha indica el momento de la antesis (28 abril). La segunda flecha indica el segundo tratamiento con AG (2 de mayo). La tercera flecha indica el momento del cuajado (12 de mayo). Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017.

Esta evolución en el peso de las flores, es consecuencia del segundo tratamiento realizado con AG (25 mg l<sup>-1</sup>) tras la antesis y caída de pétalos (2 de mayo). Este tratamiento incrementó el número de frutos por ramo mixto, que pasó de un valor medio de 2.27 a 2.98 en los árboles control ( $P \leq 0.05$ ), y de 1.96 a 3 en los árboles tratados en otoño para retrasar la recolección ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 9). Con el tiempo, estas diferencias se redujeron como consecuencia de la caída fisiológica de frutos, y el 10 de julio el número de frutos por ramo mixto en los árboles tratados con AG en otoño y primavera era el mismo que en los controles y significativamente superior al de los árboles tratados sólo para retrasar su recolección (Figura 9). Los árboles control y tratados con AG tenían el mayor número de frutos por ramo mixto. La relación inversa encontrada entre el número de frutos por rama y su peso medio, explica las diferencias señaladas en el tamaño del fruto en desarrollo a mediados de junio y de julio, y ha sido demostrada en diferentes especies, como en rosáceas (Stembridge y Gambrell, 1974; Chalmers y van den Ende 1975; Agustí *et al.*, 2000; Gariglio *et al.*, 2003) y cítricos (Noma, 1981; Gallasch, 1988).



**Figura 9.** Número de frutos por ramo mixto de árboles de caqui “Rojo Brillante”, tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l<sup>-1</sup>) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l<sup>-1</sup>) para promover el desarrollo (AG-AG), AG sólo en primavera (C+AG, 25 mg l<sup>-1</sup>) y sin tratar. Valores correspondientes al 12 de junio y 10 de julio, cuando los frutos estaban en fase de desarrollo. Cada valor es la media de 30 medidas. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017.

El menor peso de los frutos tratados en otoño con AG, es consecuencia de un menor número de filas de células. En efecto, 15 días después de la antesis, la sección transversal de estos frutos recién cuajados presentaba  $23.4 \pm 0.8$  filas de células en sentido radial, mientras que los árboles control tenían  $28.4 \pm 0.9$ , difiriendo entre sí estadísticamente ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 10). Ello pone de manifiesto, el retraso en el desarrollo de la flor de los árboles tratados en otoño con AG para retrasar la recolección y, por tanto, el menor peso del fruto en antesis, respecto de los controles, particularmente a mediados de junio, cuando el fruto ya había iniciado su crecimiento lineal.

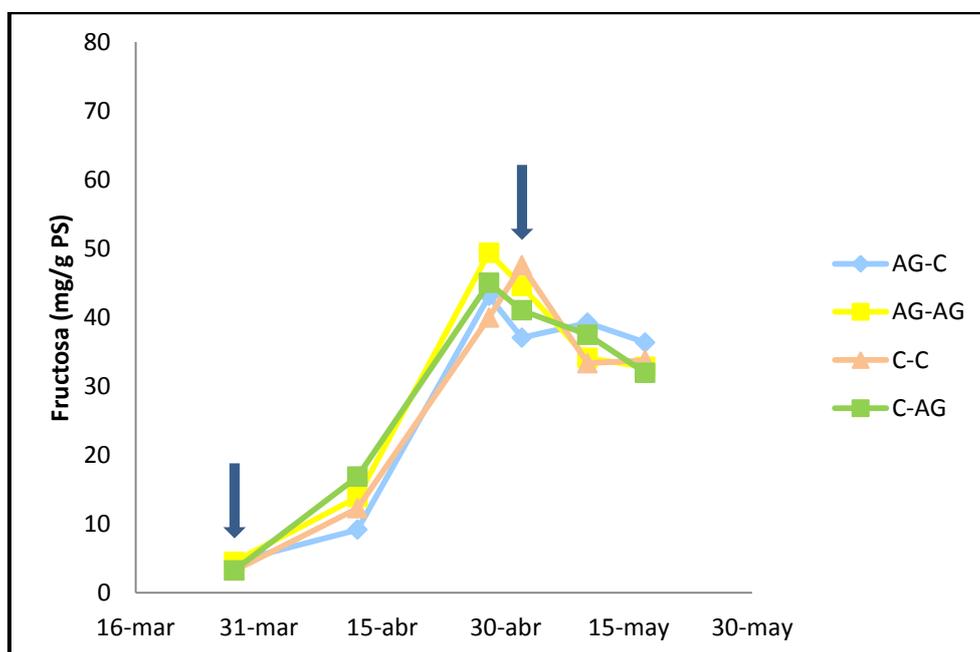


**Figura 10.** Número de células por milímetro de árboles de caqui “Rojo Brillante”, tratados con ácido giberélico (AG, 50 mg l<sup>-1</sup>) en otoño para retrasar la recolección y en primavera (AG, 25 mg l<sup>-1</sup>) para promover el desarrollo (AG-AG) y sin tratar. Valores correspondientes al 12 de mayo, cuando los frutos estaban recién cuajados. Cada valor es la media de 30 medidas. Letras distintas para una misma fecha indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Valores correspondientes al año 2017.

La aplicación de AG al inicio de la brotación consiguió aumentar el número de filas de células en los frutos de estos árboles ( $26.2 \pm 1.0$ ), que no difirió estadísticamente de los frutos de los árboles control ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 10), y explica por qué en el momento de la antesis, ambos frutos no diferían estadísticamente en su peso (Figura 6) y por qué el peso de sus frutos era igual al de los frutos de los árboles que sólo fueron tratados para retrasar la recolección, aún a pesar de tener un 36% de frutos menos por ramo mixto (Figura 9).

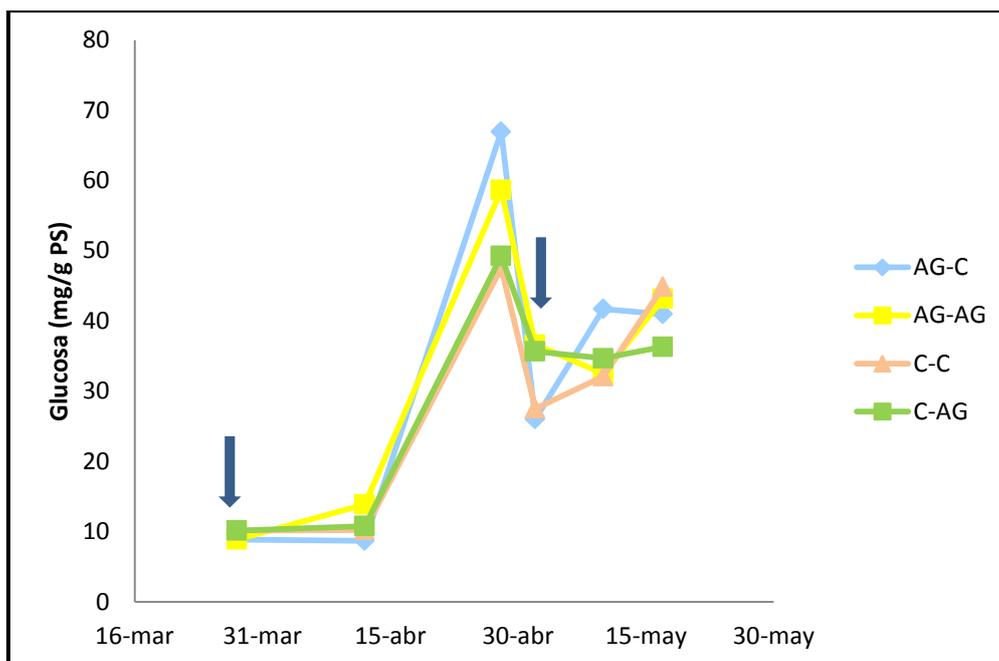
La aplicación de AG (25 mg l<sup>-1</sup>) al inicio de la brotación, mejoró marcadamente el desarrollo vegetativo y reproductivo, dando lugar a brotes y hojas de mayor tamaño y a flores de mayor peso. El tratamiento tras la caída de pétalos, aumentó el número de frutos en desarrollo por ramo mixto. Este último efecto implica a las giberelinas en el cuajado de esta especie, como ya demostró Bosch (2014) estudiando el papel de los sépalos en el desarrollo de las flores.

## 4.2 INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE AG PARA EL RETRASO DE LA MADURACIÓN Y PARA EL ESTÍMULO DE LA BROTAÇÃO EN EL BALANCE DE CARBOHIDRATOS:



**Figura 11.** Evolución del contenido en fructosa de las flores de caqui "Rojo Brillante" tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017.

La aplicación de AG en el momento de la brotación alteró sensiblemente el contenido de fructosa de las flores. Así, dos semanas después de la primera aplicación (12 de abril), la concentración de fructosa en las flores de los árboles tratados era mayor (15.4 mg/g PS en promedio), independientemente de si éstos se trataron o no en otoño, que los no tratados, que fue en promedio (10.7 mg/g PS). Quince días más tarde, (28 de abril) los resultados fueron similares siendo las flores tratadas en primavera, las que mayor contenido en fructosa tenían (49.4 y 45 mg/g PS) si se trataron también en otoño o no, respectivamente aunque sin alcanzar diferencia significativa (Figura 11). A partir de la antesis el contenido en fructosa descendió en todos los tratamientos de manera paralela hasta el final del experimento. Sin embargo, la segunda aplicación de AG (2 de mayo) no alteró el balance de fructosa en las flores tratadas que fue similar a las que no se trataron. Tampoco se observaron diferencias significativas cuando el AG se aplicó en otoño para retrasar la maduración del fruto ya que la concentración de fructosa de las flores del nuevo brote presentaron concentraciones similares, independientemente de si se volvieron a tratar en primavera (43.1 mg/g PS y 49.4 mg/g PS, respectivamente) (Figura 11).



**Figura 12.** Evolución del contenido en glucosa de las flores de caqui “Rojo Brillante” tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017.

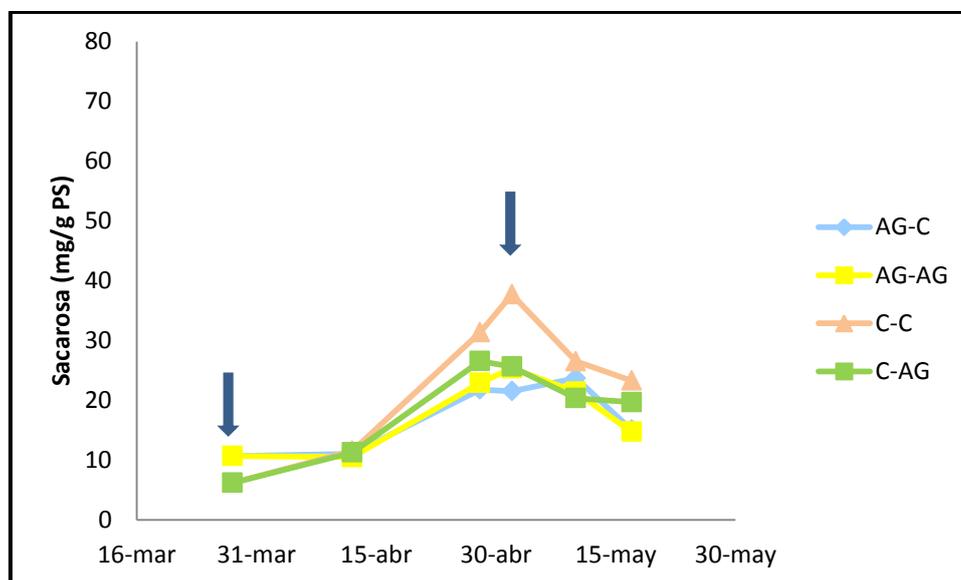
Algo parecido se observó con el contenido de glucosa cuya concentración alcanzó los valores máximos en el momento de la antesis, independientemente del tratamiento, descendiendo progresivamente después (Figura 12). En este caso, la respuesta no fue inmediata y 12 días después de la primera aplicación de AG para estimular la brotación (12 de abril) no se encontraron diferencias significativas entre la concentración de glucosa de las flores de todos los tratamientos que en promedio fue de (10.9 mg/g PS).

Tampoco en el momento de la antesis (28 de abril) el AG aplicado en primavera consiguió aumentar significativamente la concentración de glucosa en sus flores independientemente de si estas se habían tratado también en otoño o no (58.7 y 49.3 mg/g PS), respectivamente, respecto a las que no se trataron que fue de (66.9 y 47.6 mg/g PS) tratadas sólo en otoño y no tratadas, respectivamente (Figura 12).

Cinco días más tarde, al igual que en la fructosa, el contenido en glucosa descendió bruscamente independientemente del tratamiento, siendo significativamente mayor en las flores que no se trataron en primavera (26.7 mg/g PS en promedio) que en las que sí que se trataron (36.2 mg/g PS en promedio), estas últimas una mayor estabilidad (Figura 12).

En este momento se realizó la segunda aplicación de AG a los brotes de primavera y 15 días más tarde la concentración de glucosa en estas flores se mantuvo prácticamente estable,

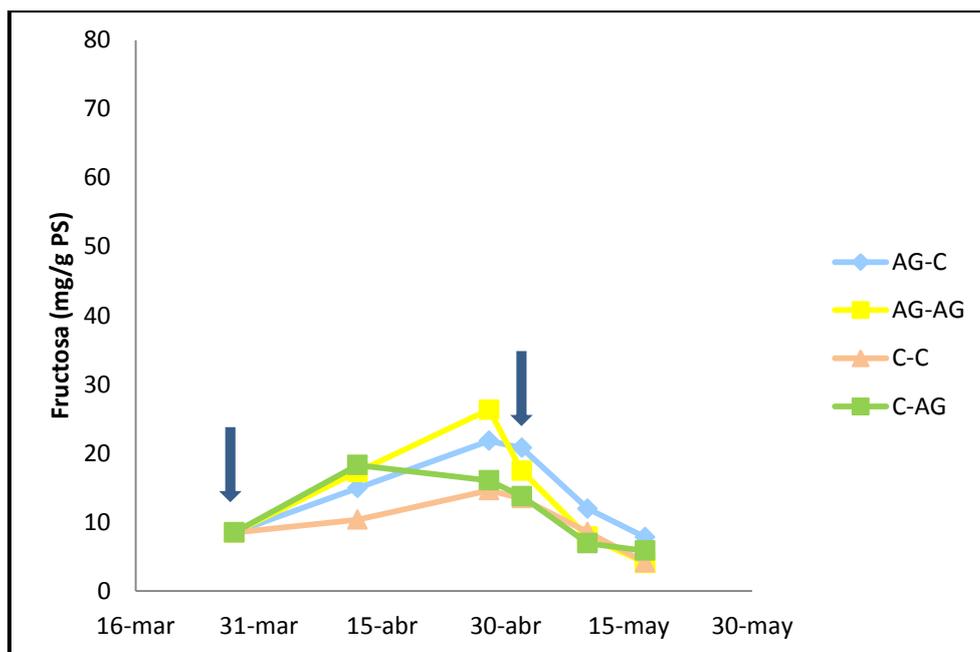
independientemente de si estas se trataron también en otoño. A pesar de ello, sólo las flores del control, es decir, las que no se trataron con AG en ninguna época, tuvieron un menor contenido de glucosa que, por el contrario, fue ligeramente superior al final del experimento (Figura 12).



**Figura 13.** Evolución del contenido en sacarosa de las flores de caqui "Rojo Brillante" tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017.

En cuanto al azúcar de transporte, la evolución de su contenido en las flores tratadas fue similar, independientemente de si estas se trataron en una época u otra. Es más, sólo las flores del control y, por tanto, sin AG tuvieron un mayor contenido de sacarosa durante todo el experimento siendo hasta de un 35.8% más 5 días después de la antesis (Figura 13). En este caso la aplicación de AG en primavera no obtuvo respuesta inmediata en el balance de sacarosa que sólo en el momento de la antesis (1 mes después de la primera aplicación) aumentó su concentración ligeramente (4.7 mg/g PS) respecto de las flores que sólo se trataron en otoño (Figura 13).

Merece la pena destacar que aunque todos los azúcares alcanzaron sus valores máximos en la antesis, cuantitativamente la sacarosa fue la de menores umbrales.

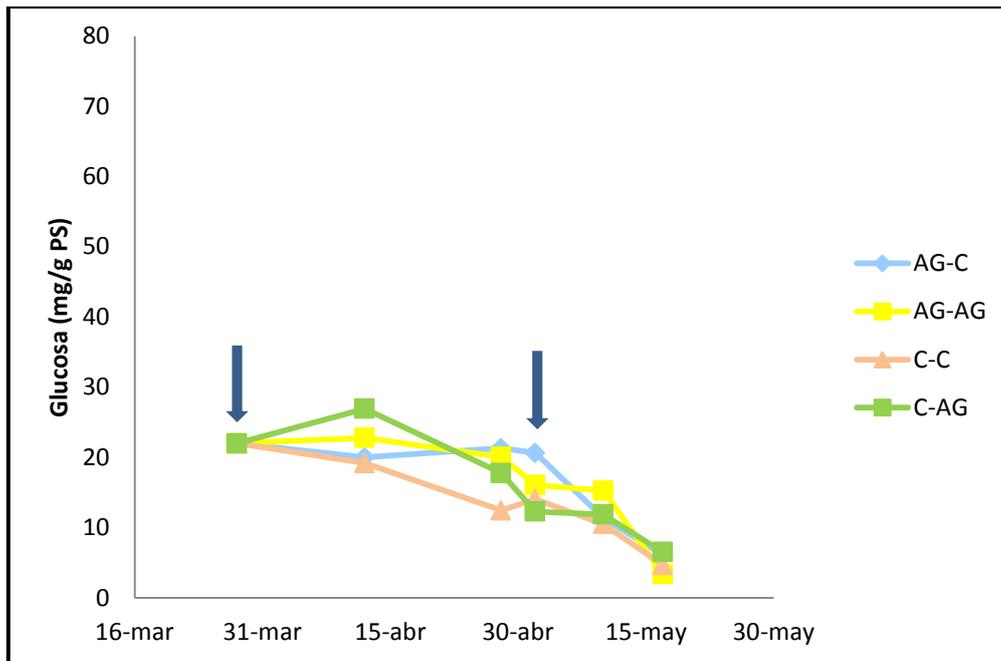


**Figura 14.** Evolución del contenido en fructosa de las hojas de caqui “Rojo Brillante” tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017.

El balance de carbohidratos en las hojas también se vio modificado por los tratamientos. La respuesta fue inmediata y 15 días después de la primera aplicación de AG durante la brotación, las hojas del brote tratado tenían más fructosa (17.8 mg/g PS en promedio) que las no tratadas (12.6 mg/g PS en promedio) independientemente de si estas se trataron también en otoño o no (Figura 14).

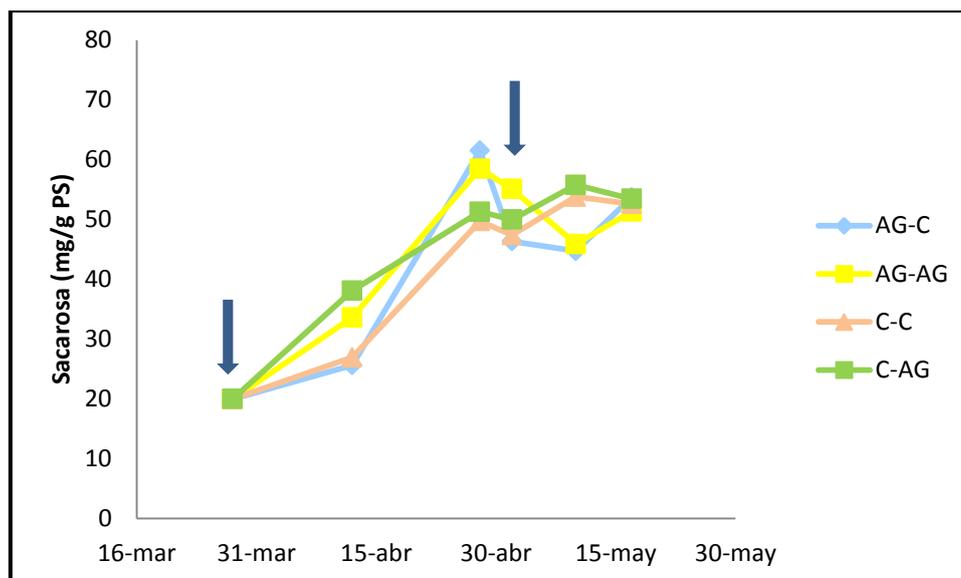
Desde la antesis hasta el final del estudio la concentración de este azúcar en las hojas descendió progresivamente independientemente del tratamiento y de la época en que este se hiciese. No hubo, por tanto, respuesta en la planta a la segunda aplicación de AG (2 de mayo) ya que 8 días después de esta, la concentración de fructosa en las hojas tratadas fue igual a las del control y (45 %) menor a la de las hojas que sólo se trataron en otoño.

También en este caso, al igual que en las flores, pero en menor proporción, la concentración de fructosa aumentó en el momento de la antesis (28 de abril) hasta sus valores máximos a excepción de las tratadas sólo en primavera, que descendió ligeramente. En el momento de la antesis, las hojas con mayor contenido en fructosa fueron las que se trataron en otoño y una vez en primavera (26.3 mg/g PS) y las de menor contenido las de los árboles control (14.62 mg/g PS) exentas, por tanto, de tratamiento experimentando ambas después un descenso en su contenido más pronunciado en las primeras (84.4%) que en las segundas (71.4%) (Figura 14).



**Figura 15.** Evolución del contenido en glucosa de las hojas de caqui “Rojo Brillante” tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017.

Algo parecido se observó en el contenido de glucosa en las hojas cuya tendencia decreciente en todos los tratamientos fue similar a la de la fructosa. También en este caso la respuesta de la primera aplicación de AG en primavera fue inmediata y una semana después del tratamiento la cantidad en glucosa en las hojas tratadas fue significativamente mayor (24.8 mg/g PS) en promedio, que las que no se trataron que fue (19.6 mg/g PS), independientemente de si estas también se trataron en otoño (Figura 15). En este sentido la respuesta fue mayor en las hojas que sólo se trataron en primavera (26.9 mg/g PS) que las que también recibieron el AG en otoño (22.8 mg/g PS). Sin embargo, a diferencia de lo observado con la fructosa, no se encontró un aumento de la concentración, sino que descendió en todos los tratamientos excepto en las hojas de los árboles que se trataron sólo en otoño, que aumentó ligeramente. Aunque después de la antesis la concentración de este azúcar fue decreciente en todos los tratamientos y la segunda aplicación de AG (2 de mayo) tuvo un efecto inmediato aunque limitado que mantuvo la concentración constante durante 8 días. Sin embargo, 7 días más tarde el efecto se perdió y la concentración de glucosa fue la misma para todos los tratamientos (5.2 mg/g PS) en promedio (Figura 15).



**Figura 16.** Evolución del contenido en sacarosa de las hojas de caqui “Rojo Brillante” tratadas en otoño (AG-C), en otoño y primavera (AG-AG), sólo en primavera (C-AG) y control (C-C). El tratamiento de otoño se realizó el 28 de marzo y a una concentración de 50mg l<sub>-1</sub> y el de primavera el 2 de mayo y a una aplicación de 25mg l<sub>-1</sub>. El error estándar es menor al tamaño del símbolo. Las flechas indican los momentos de tratamiento. Valores correspondientes al año 2017.

El contenido foliar en sacarosa apenas se vio alterado por la aplicación de AG excepto a los 15 días de la primera aplicación de primavera que aumentó su concentración en (15.9 mg/g PS en promedio) respecto de los que no se trataron en esta época (6.3 mg/g PS) (Figura 16). También en este caso, aún sin haber diferencias entre los tratamientos, todos alcanzaron sus valores máximos en el momento de la antesis manteniéndose estables en las hojas que sólo se trataron en primavera y las que nunca recibieron aplicación alguna de AG, (50.65 y 48.57 mg/g PS) en promedio, respectivamente, las que sólo se trataron en otoño y en ambas épocas, por el contrario, disminuyeron ligeramente su concentración de sacarosa.

En este sentido la respuesta de la planta a la segunda aplicación de AG de primavera fue diferente. Así, mientras en las hojas que sólo recibieron la segunda dosis de AG (C-AG) la concentración de sacarosa a los 8 días de la misma aumentó en 10.4%, en las que también se trataron en otoño por el contrario, disminuyó en un 16.8%, perdiéndose estas diferencias 7 días después(Figura16).

# **DISCUSIÓN**

## 5. DISCUSIÓN:

La aplicación de ácido giberélico se ha mostrado una técnica muy eficaz para retrasar la maduración de frutos climatericos, como el caqui (Agustí et al., 2004) y melocotón (Dagar et al., 2012), entre otros, y de frutos no climatericos, como el pomelo (McDonald et al., 1997) y las mandarinas (Guardiola et al., 1981; Agustí et al., 2002) y naranjas (Coggins y Eaks, 1964; Gambetta et al., 2014). Esta sustancia se ha mostrado como un potente antisenescente que retarda la degradación de las clorofilas en el fruto permitiendo retrasar su recolección. En el caqui, la aplicación de AG, a una concentración de 30 mg l<sup>-1</sup>, en etapas próximas al cambio de color (tratamiento de otoño), consigue retrasar la recolección en aproximadamente 10 días (Agustí et al., 2004). Sin embargo, su aplicación repetida durante el otoño, hasta en 3 ocasiones, y a una concentración injustificadamente más elevada (50 mg l<sup>-1</sup>) se está utilizando para retrasar la recolección hasta en 20 días, aproximadamente (Ventura, 2017).

Por otra parte, el efecto inhibitor del fruto sobre la brotación y floración, cuando éste ha alcanzado prácticamente su tamaño final, se ha identificado en numerosas especies leñosas, tanto perennifolias, naranjo dulce (Martínez-Fuentes et al., 2010), pomelo (Betancourt et al., 2008) y níspero japonés (Reig et al., 2014), como caducifolias, melocotonero (Reig et al., 2006). Esta acción del fruto se ha relacionado con la síntesis de giberelinas, capaces por un lado de interferir en la inducción floral (El-Otmani et al., 1995) y, por otro, en el control de la brotación de las yemas (Faust, 1989).

Es por ello que el aumento del tiempo de permanencia del caqui en el árbol conseguido con la aplicación repetida de AG durante su maduración, reduce considerablemente la brotación, floración y desarrollo de los brotes de la primavera siguiente, acarreando problemas importantes de producción (Hernández, 2014).

Teniendo en cuenta que es una especie caducifolia que requiere la acumulación de horas frío durante la latencia para completar la maduración de sus yemas y brotar correctamente en primavera, el retraso (30 días) provocado en la abscisión de las hojas, y con ello de la entrada en latencia de las yemas, por efecto del tratamiento, podría ser el causante de los problemas de brotación y floración detectados (Heide, 2003; Fu et al., 2014).

En efecto, en nuestro experimento, los árboles tratados en otoño con AG para retardar su recolección retrasaron significativamente la senescencia de sus hojas y su abscisión, posponiendo la entrada en latencia de sus yemas. Nuestro estudio histológico así lo demuestra y mientras el 21 de diciembre en las yemas de los árboles sin tratar ya eran visibles los primeros primordios foliares, en las de los árboles tratados con ácido giberélico ello se pospuso hasta el 1 de febrero, y en ese momento los primeros eran marcadamente más grandes que los segundos. Estas observaciones sugieren que las yemas de los árboles tratados con ácido giberélico para retardar la recolección alcanzan la endolatenia más tarde que las de los árboles sin tratar. Pero dado que la ecolatenia está regulada por las condiciones medioambientales, su salida de la latencia se lleva a cabo con déficit de horas frío que impide una brotación y floración adecuadas. Y ello conlleva el desarrollo de flores de escasa calidad que, por consiguiente, dan frutos de baja calidad.

En los naranjas y mandarinas, la aplicación de ácido giberélico (10 mg l<sup>-1</sup>) al inicio de la brotación consigue mejorar notablemente el desarrollo vegetativo, aumentando el peso de las hojas y la superficie foliar (Guardiola et al., 1980). Asimismo, su aplicación mejora la longitud del tallo de la rosa (Shank et al., 1985). Pero este efecto no ha sido estudiado en otras especies leñosas, a pesar del efecto positivo que puede conllevar en cultivares de escaso vigor o para acelerar el desarrollo vegetativo de los injertos o después de algún problema atmosférico. La acción de las giberelinas en este proceso deriva de la limitación del contenido endógeno de estas hormonas que las hojas tienen al inicio de su desarrollo ante determinadas condiciones. El retraso en la recolección podría ser una de ellas en el caso del caqui.

Por primera vez, por tanto, se ha observado este mismo efecto en una especie distinta a los cítricos, demostrándose que cuando el ácido giberélico se aplica una concentración de 25 mg l<sup>-1</sup> al inicio de la brotación mejora el desarrollo vegetativo y el de las flores. Nuestro trabajo demuestra, además, que cuando se aplica a árboles que habían recibido un tratamiento repetido con 50 mg l<sup>-1</sup> de esta misma hormona para retrasar la coloración y recolección de los frutos, la brotación y floración siguientes no se ven disminuidas en relación con los árboles control sin tratar. Los árboles que recibieron este tratamiento presentaron brotes y hojas más grandes y un mejor desarrollo de las flores que aquellos que no lo recibieron.

Las relaciones fuente-sumidero juegan un papel dominante en la utilización de carbohidratos por parte del árbol. Durante la brotación, las reservas proporcionan los carbohidratos necesarios para el crecimiento hasta que el área foliar es suficiente para atender la demanda de los sumideros. La importancia de las reservas para la brotación y floración es obvia en especies caducifolias, como el caqui, en las que estos procesos tienen lugar al inicio de la primavera cuando la capacidad fotosintética del árbol aún no se ha iniciado por falta de hojas. Los cambios experimentados en los azúcares de las hojas y yemas de flor del nuevo brote en crecimiento son, en nuestro experimento, coherentes con este concepto. La presencia de azúcares reductores en estos órganos en el momento de la brotación indica un consumo inmediato necesario para cubrir la demanda energética de la división celular en el momento de la brotación que fue idéntica en todos los tratamientos, aunque los valores más altos de estos azúcares (glucosa y fructosa) encontrados en las hojas y en las flores en el momento de la antesis, junto con los del azúcar de transporte (sacarosa), indican una elevada actividad nutricional. Pero el retraso de la recolección conseguido con la aplicación de AG en otoño, por tanto, no alteró el balance nutricional de los nuevos brotes. Sin embargo, la primera aplicación de AG a los nuevos brotes en desarrollo consiguió, aunque sólo temporalmente, aumentar la concentración de carbohidratos en las nuevas hojas y flores. Esto es coherente con la acción que se le atribuye al AG aumentando la capacidad sumidero y, por tanto, el reclamo de carbohidratos.

Es más, aunque son numerosos los trabajos que relacionan el metabolismo de los carbohidratos como factor determinante de la brotación y floración, nunca se ha demostrado una relación causa-efecto, sino más bien que estos procesos están sujetos a un control hormonal, como también se ha demostrado mediante aplicaciones exógenas de AG en el aguacate (Salazar-García y Lovatt, 2000), albaricoquero (Southwick et al., 1995) y mango (Turnbull et al., 1996).

En coherencia con ello, en los cítricos tampoco se encontraron diferencias significativas en la concentración foliar de carbohidratos en el momento de la brotación entre árboles 'on' y árboles 'off' de especies alternantes (Martínez-Fuentes, 2010). Siendo que es el fruto quien controla la

brotación y la floración, la acción de los carbohidratos sobre estos procesos resulta irrelevante y se traduce únicamente en un papel energético, como se ha demostrado para otras especies como el melocotonero (Reig et al., 2006).

Lo hasta aquí expuesto refleja la importancia de los carbohidratos como fuente de energía, no determinantes de la brotación, pero sí necesarios para que ésta progrese (Srivastava, 2002) y de la importancia de los sumideros en el reparto de los mismos. En este sentido, nuestros resultados son coherentes con ello y, así, la acumulación de azúcares reductores y de transporte en las flores después de la antesis refleja que los frutos en desarrollo dependen críticamente de los fotoasimilados transportados desde las hojas. Pero nuestros resultados no permiten afirmar que las variaciones en el metabolismo de los carbohidratos sean consecuencia de las alteraciones del desarrollo vegetativo, ya que la aplicación de AG directamente a la yema en el momento de la brotación estimula su crecimiento sin alterar apenas la concentración foliar y floral de azúcares.

# **CONCLUSIONES**

## **6. CONCLUSIONES:**

1.- La aplicación de AG (50 mg l<sup>-1</sup>) en otoño para retrasar la maduración del fruto retrasó la entrada en latencia de las yemas y, consecuentemente, su brotación. El desarrollo de la flor y del brote también se vieron afectados, disminuyendo significativamente en éste último su vigor.

2.- La aplicación de AG (25 mg l<sup>-1</sup>) junto con un compuesto rico en nitrógeno (28% N), en el momento de la brotación, mejoraron el desarrollo de los brotes y de las flores.

3.- El contenido de carbohidratos en las hojas y flores del nuevo brote apenas se vio alterado por los tratamientos, y en ningún caso tuvo un papel regulador sobre la brotación.

# **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

**Agustí, M., Juan, M., Martínez-Fuentes, A., Mesejo, C., Almela, V.** (2004). Calcium nitrate delays climacteric of persimmon fruit. *Ann. Appl. Biol.*, 144: 65-69.

**Agustí, M., Martínez-Fuentes, A. y Mesejo, C.** (2002). Citrus fruit quality. Physiological basis and techniques of improvement. *Agrociencia*, VI (2): 1-16.

**Agustí, M.** (2000). Citricultura. *Mundi Prensa*. Madrid. España.

**Alfárez, F.** (2001). Regulación hormonal de la maduración en frutos cítricos y su relación con alteraciones fisiológicas durante la postcosecha. Tesis doctoral. Valencia. España.

**Bangerth, F., Dilley, D. R., Dewey, D. H.** (1972). Effect of postharvest calcium treatments on internal breakdown and respiration of apple fruits. *Amer. Soc. Hort. Sci. J.* (vol. 97, pp. 679-682).

**Ben-Arie, R., Saks, Y., Sonego, L., Frank, A.** (1996). Cell wall metabolism in gibberellintreated persimmon fruits. *Plant Growth Regul.*, 19: 25-33.

**Betancourt, M., Sistachs, V., Martínez-Fuentes, A., Mesejo, C., Reig, C. y Agustí, M.** (2014). Influence of harvest date on fruit yield and return bloom in 'Marsh' grapefruit trees (*Citrus paradisi* Macf.) grown under tropical climate. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 89: 435-440.

**Biale, J.B. y Young, R.E.** (1981). Respiration and ripening in fruits. *Academic Press*. Londres. UK.

**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.

**Bradley, M. V., Crane, J. C.** (1960). Gibberellin-induced inhibition of bud development in some species of *Prunus*. *Science.*, 131 (3403): 825-826.

**Brady, C.J.** (1987). Fruit ripening. *Plant physiology.* (38:155-178).

**Chalmers, D. J., Van den Ende, B.** (1975). Productivity of peach trees: factors affecting dry-weight distribution during tree growth. *Annals of Botany*, 39 (3): 423-432.

**Coggins, C.W. Jr. Y Eaks, I.L.** (1964). Rind staining and other rind disorders of navel orange reduced by gibberellin. *Calif. Citrograph*, 50: 2-47.

**Dagar, A., Weksler, A., Friedman, H., Lurie, S.** (2012). Gibberellic acid (GA3) application at the end of pit ripening: effect on ripening and storage of two harvests of 'September Snow' peach. *Sci. Hortic.* (vol. 140, pp. 125-130).

**Dostal, H. C., Leopold, A. C.** (1967). Gibberellin delays ripening of tomatoes. *Science.* (vol. 158, pp. 1579-1580).

**El-Otmani, M., C.J. Lovatt, C.W. Coggins Jr. y M. Agustí.** (1995). Plant growth regulators in citriculture. Factors regulating endogenous levels and biosynthesis in citrus tissues. *Critical Rev. Plant Sci.*, (14: 367-412).

**Faust, M.** (1989). Physiology of temperata zone fruit tres. Ed. John Wiley & Sons, New York.

**Fisher, R.L. y Bennet, A.B.** (1991). Role of cell wall hydrolases in fruit ripening. *Plant physiology.* (42:675-703).

**Fu, Y. S. H., Campioli, Vitasse, Y., De Boeck, H.J., Van den Berge, J., AbdElgawadd, H., Asaridd, H., Piao, S., Deckmyn, G., Janssens, I.A.** (2014). Variation in leaf flushing date influences autumnal senescence and next year's flushing date in two temperate tree species. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (vol. 111, pp. 7355-7360).

**Fulford, R. M.** (1960). The use of defoliating sprays for the control of biennial bearing in apple. *Journal of Horticultural Science*, 35 (3): 202-213.

**Gallasch, P.T.** (1988). Chemical thinning of heavy crops of mandarins to increase fruit size. *Proc. Int. Soc. Citricult.*, 1: 395-405.

**Gambetta, G., Mesejo, C., Martínez-Fuentes, A., Reig, C., Gravina, A., Agustí, M.** (2014). Gibberellic acid and norflurazon affecting the time-course of flavedo pigment and abscisic acid content in 'Valencia' sweet orange. *Sci. Hortic.* (vol. 180, pp. 94-101).

**Garcia-Luis, A., Fornes, F., Guardiola, J. L.** (1986). Effects of gibberellin A3 and cytokinins on natural and post-harvest, ethylene-induced pigmentation of Satsuma mandarin peel. *Physiol. Plant.* (vol. 68, pp. 271-274).

**Gariglio, N., Castillo, A., Juan, M., Almela, V., Agustí, M.** (2003). Effects of fruit thinning on fruit growth, sugars and purple spot in loquat fruit (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnol.*, (78 (1): 32-34).

- Giménez Haro, R.** (2017). Técnicas para mejorar la brotación y floración del caqui afectadas por la fecha de recolección. Trabajo Fin de Grado, ETSIAMN-UPV, Valencia.
- Guardiola, J.L., M. Agustí, J. Barberá y A. Sanz.** (1981). Influencia del ácido giberélico en la maduración y senescencia del fruto de la mandarina "Clementina" (*Citrus reticulata* Blanco). *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.*( 221: 225-239).
- Guardiola, J.L., Agustí, M., Barrera, J., García-Marí, F.** (1980). Influencia de las aplicaciones de ácido giberélico durante la brotación en el desarrollo de los agrios. *Agroquim. Tecnol. Aliment.*, (20: 139-143).
- Guelfat-Reich, S., Safran, B.** (1973). Maturity responses of *Sultanina* grapes to gibberellic acid treatments. *Vitis* (vol. 12, pp. 33-37).
- Heide, O.M.** (2003). High autumn temperature delays spring bud burst in boreal trees, counterbalancing the effect of climatic warming. *Tree Physiol.* (vol. 23, pp. 931–936).
- Hernández, A.** (2014). Evaluación de cuatro reguladores de crecimiento en chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq) en el ciclo agrícola otoño - invierno 2013/2014 en Acayucan, Ver. Tesis de Licenciatura. FISPA - Universidad Veracruzana. Acayucan, (Ver. Mèxico. 74 p.).
- Jackson, P. R., Agustí, M., Almela, V., Juan, M.** (1992). Tratamientos para mejorar la conservación en el árbol del fruto de la mandarina 'Fortune'. *Lev. Agric.* (vol. 317, pp. 16-22).
- King R.W., Ben-Tal Y.** (2001). A florigenic effect of sucrose in *Fuchsia hybrida* is blocked by gibberellin-induced assimilate competition. *Plant Physiol.* (vol. 125(1):488-96).
- Kong Y., Ma J., Karplus M., Lipscomb W.N.**(2006). The allosteric mechanism of yeast chorismate mutase: a dynamic analysis. *J Mol Biol* (356(1):237-47)
- Lang, A.** (1965). Physiology of flower initiation. *Springer.* (Vol.15, pp. 1380–1536).
- Leite V.M.; Rosolem C.A.; Rodrigues J.D.** (2003). Gibberellin and cytokinin effects on soybean growth. *Scientia Agricola* (60: 537-541).
- Lurie, S.** (2000). Manipulating fruit development and storage quality using growth regulators. *Food Products Press*, Nueva York.
- Martínez-Fuentes, A., Mesejo, C., Reig, C. y Agustí, M.** (2010). Timing of the inhibitory effect of fruit on return bloom of Valencia sweet orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *J.Sc.Food Agric.*, 90: 1936-1943.

- Martínez-Fuentes, A.** (2010). El tiempo de permanencia del fruto en el árbol y su relación con la floración en los cítricos. PhD Tesis, Universidad Politécnica, Valencia, España.
- Martínez-Fuentes, A.**(1996). Generalitat Valenciana, Valencia, (pp.17-33; 35-54; 177-202).
- McDaniel CN, King RW, Evans LT** (1991) Floral determination and in vitro floral differentiation in isolated shoot apices of *Lolium temulentum* L. *Planta* **185**: 9–16
- McDonald, R. E., Greany, P. D., Shaw, P. E., McCollum, T. G.** (1997). Preharvest applications of gibberellic acid delay senescence of *Florida* grapefruit. *Hortic. Sci.* (vol. 72, pp. 461-468).
- Mir, N. A., Perez, R., Schwallier, P., Beaudry, R.** (1999). Relationship between ethylene response manipulation and volatile production in *Jonagold* variety apples. *J. Agric. Food Chem.* (vol. 47, pp. 2653-2659).
- Moline H E.** (1980). Effects of vacuum infiltration of calcium chloride on ripening rate and chilling injury of tomato fruit. *Phytopathology* (vol. 70, pp. 691).
- Noma, Y. (1981).** Effect of ethyl 5-chloro-1 H-3-indazolylacetate on fruit thinning of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marcovitch). *Proc. Int. Soc. Citricult.*, 1: 271-275.
- Reig, C., Farina, V., MesejoC., Martínez-Fuente, A., Barone, F. y Agustí, M.** (2014). Fruit regulates bud sprouting and vegetative growth in field-grown loquat trees (*Eriobotrya japonica* Lindl.). Nutritional and hormonal changes. *J.Plant Growth Regul.*, 33:222-232.
- Reig, C. y Agustí M.** (2006). Morfología y anatomía. En: El Cultivo del Níspero Japonés, M. Agustí, C. Reig y P. Undurruga (Eds.), *Gráficas Alcoy*, España (pp 49-72).
- Reig, C., González-Rossia, D., Juan, M. y Agustí, M.** (2006). Effects of fruit load on flower bud initiation and development in peach. *J. Hortic. Sc. Biotechnol.*, 81: 1079-1085
- Sachs,L.** (1977). Desensitization of Enucleated Cells to Hormones and Role of Cytoskeleton in Control of Normal Hormonal Response. *National Academy of Science.* (Vol. 77, pp. 4798-4802)
- Salazar- García, S. y Lovatt, C.J.** (2000). Use of GA<sub>3</sub> to manipulate flowering and yield of “Hass” avocado. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, (125: 25-30).
- Shanks, J. B., Mityga, H. G.** (1985). Effects of Promalin on greenhouse roses. En *Proceedings annual meeting-Plant Growth Regulator Society of America (USA)*.

- Southwick, S.M., Weis, K.G., Yeager, J.T. y Zhou, H.** (1995). Controlling cropping in "Loadel" cling peach using gibberellin: effects on flower density, fruit distribution, fruit firmness, fruit thinning and yield. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, (120: 6. 1087-1095).
- Srivastava, L.M.** (2002). Plant growth and development. *Hormones and environment*, Academic Press, Ca, EE.UU.
- Stembridge, G.E., Gambrell, C. E., JR.** (1974). Measuring peach thinning and maturation responses. *HortScience*, 9: 29-30
- Thompson, P. A., Guttridge, C. G.** (1959). Effect of gibberellic acid on the initiation of flowers and runners in the strawberry. *Nature*, 184 (4688): BA-72.
- Turnbull, C.G., Anderson, K.L. y Winston, E.C.** (1996). Influence of gibberellin treatment on flowering and fruiting patterns in mango. *Austr. J. Exp. Agric.* (36: 603-611).
- Ventura, B.** (2017). La aplicación de ácido giberélico y de compuestos de calcio para retrasar la recolección del caqui Rojo Brillante. Trabajo Fin de Carrera, ETSIAMN-UPV, Valencia.
- Wang, Z., Dilley, D. R.** (2001). Aminoethoxyvinylglycine, combined with ethephon, can enhance red color development without over-ripening apples. *HortScience* (vol. 36, pp. 328-331).
- Wills, R. B. H., Tirmazi, S. I. H.** (1982). Inhibition of ripening of avocados with calcium. *Sci. Hortic.* (vol. 16, pp. 323-330).
- Wills, R. B. H., Tirmazi, S. I. H., Scott, K. J.** (1997). Use of calcium to delay ripening of tomatoes. *HortScience* (vol. 12, pp. 551-552).