

kesiya and *P. radiata* en Turrialba, Costa Rica, son severamente atacadas por el barrenador del brote terminal *Rhyacionia frustrana* Comstock. Se encontró una elevada mortalidad de larvas al aplicar Dime-thoate (1 cc/L perfection 40% LE). Asimismo, se observó un control biológico natural sobre las larvas y las pupas. Se incluye algunas recomendaciones sobre el manejo de plantaciones de pino bajo condiciones tropicales.

10 de diciembre de 1982

R. SALAZAR*

* Celulosa de Turrialba S.A., Turrialba, Costa Rica

Literatura citada

- 1 GARGLULLO, P. M. y BERISFORD, C. W. Sampling for pine tip-moths. A procedural guide. Research Bulletin No. 272. Experimental State University of Georgia 1981. 23 p.
- 2 MILLER, W. E.; WANBACH, R. F. y ANFANG, R. A. Effect of past european pine shoot moth infestation on volume yield of pole-sized red pine. *Forest Science* 24(4):543-550. 1978.
- 3 PREE, D. J. and SAUNDERS, J. L. Bioactivity and translocation of carbofuran residues in mugo pine. *Environmental Entomology* 2(2): 262-267. 1973.
- 4 PREE, D. J. Chemical control of the european pine shoot moth. *Journal of Economic Entomology* 65(4):1 081-1 085. 1972.
- 5 THOMPSON, H. E.; ALLAN, G. G. and NEOGI, A. N. The control of pine tip moths by using sustained release systematic insecticides. *International pest control* 1981.
- 6 WOLDA, H. Seasonal fluctuations in rainfall, food and abundance of tropical insects. *Journal of Animal Ecology* 43:369-381. 1978.
- 7 YATES, H. O.; OVERGAARD, N. A. and KOERBER, T. W. Nantucket pine tip moth. *Forest Insect & Disease Leaflet* 70. Forest Service USA 1981. 7 p.
- 8 YATES, H. O. Larval migration of *Rhyacionia* spp. on pine shoots (Lepidoptera: Olethreutidae). *Journal of Georgia Entomology Society* 2(2): 37-41. 1967.

Efectos del ácido succínico 2,2 - dimetil hidrazida (daminozida) en los niveles de hormonas endógenas en semillas inmaduras y en la iniciación floral en manzano.

Summary. Spraying apple trees (cv. Cox's Orange Pippin) with 2 000 ppm daminozide 2 weeks after full bloom increased return bloom the following year. Analyses of extracts of seeds removed from fruits at different times after spraying with the retardant did not show any significant change in gibberellin and abscisic acid content. However, there was a decrease in auxin levels 24 and 36 days after flowering and an increase in cytokinin levels in seeds after 18 and 30 days.

Existe evidencia de que las hormonas endógenas tienen una función importante en la formación de yemas florales en las especies frutales (13, 21, 24). Se ha postulado que las giberelinas sintetizadas en semillas en desarrollo en frutos de manzano probablemente son factores que inhiben la iniciación floral (9).

Los retardantes químicos de crecimiento han sido utilizados durante varios años para el control de floración en frutales caducifolios (1, 21, 24), como por ejemplo el compuesto orgánico daminozida (Alar) en cultivares de manzano (15). El modo de acción de esta sustancia en el manzano no se conoce con exactitud; sin embargo, se ha sugerido que el daminozida actúa originando cambios en el sistema hormonal de los tejidos del frutal (8, 24). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue examinar los efectos que este retardante de crecimiento causa en los niveles de hormonas en semillas de frutos en desarrollo. El número de flores formadas fue evaluado para confirmar uno de los efectos característicos del mencionado producto químico.

Materiales y métodos

Este trabajo se realizó en la estación experimental de Long Ashton, Inglaterra, en el periodo de 1977 - 1979. El cultivar utilizado fue Cox's Orange Pippin injertado sobre MM 106. Los tratamientos con daminozida en ambos años fueron efectuados 2 semanas después de floración en una concentración de 2 000 ppm.

Para el estudio de giberelinas y ácido abscísico, en 1977, 72 árboles en una plantación (cuatro hileras) de 13 años fueron divididos en 2 grupos y subdivididos en 3 bloques cada uno con 12 árboles por bloque. Un grupo fue asperjado con el retardante, el otro (testigo) con agua. En 1978, dos hileras de árboles de la misma plantación fueron empleadas para estudiar auxinas y citocininas, dividiendo cada una en 2 grupos (15 árboles por grupo), asperjando uno de ellos con daminozida y el otro con agua a la misma concentración.

Durante el período comprendido entre un día después del tratamiento y la época de cosecha, semillas de 100 frutos de cada bloque o grupo fueron extraídas en cada muestreo. Las hormonas en estudio fueron extraídas de cada muestra una vez que esta fue liofilizada, triturada y mezclada con metanol al 80% y 100% durante un período de 24 horas a una temperatura de -18°C (16).

La purificación de cada muestra previa al análisis biológico o analítico se efectuó de la siguiente manera:

Giberelinas y ácido abscísico

Las muestras en fase acuosa fueron alcalinizadas con solución buffer (pH 8.0) y lavadas con éter de petróleo y acetato de etileno (X2). Posteriormente combinadas con PVP y filtradas en papel Whatman No. 1. En seguida el pH fue ajustado a 2.5 con ácido clorhídrico y las hormonas obtenidas en la fase etílica del acetato de etileno agregado (X3) después de acidificar la fase acuosa. Cada muestra fue posteriormente pasada por cromatografía de capa fina utilizando Kieselgel Gf254 como sílica e isopropanol; amoniaco; agua (10:i:i v/v) como solvente

Auxinas

La solución conteniendo auxinas fue ajustada a pH de 8.0 con hidróxido de sodio y filtrada en papel Whatman No. 1. En seguida el filtrado fue acidificado a pH de 2.5 con ácido clorhídrico y combinado con cloroformo (X3), quedando las auxinas en la fase de cloroformo. Posteriormente, cada muestra fue cromatografiada en la forma antes descrita

Citocininas

Cada muestra fue combinada con 50% de etanol y pasada a través de una columna de resina de intercambio catiónico (Dowex 50W - X8 200-400). Obteniendo las citocininas al agregar a la columna solución de amoníaco 1N (50 ml) y 3N (250 ml). En seguida cada muestra fue cromatografiada usando papel cromatográfico Whatman No. 3 y el mismo tipo de solvente utilizado para las hormonas ya descritas.

El contenido de giberelinas fue determinado usando las pruebas biológicas del *Rumex* (23) y del hipocotilo de la lechuga (4), utilizando diez repeticiones de cada muestra por bioensayo.

Los niveles de auxinas y citocininas se obtuvieron utilizando respectivamente los ensayos biológicos del coleoptilo del trigo (siete repeticiones por muestra en cada bioensayo) y del *Amaranthus* (diez repeticiones

de cada muestra por bioensayo) según lo indican Bentley y Housley (2) y Challice (3). El contenido del ácido abscísico fue determinado utilizando tres repeticiones por muestra mediante el uso de una cromatografía líquida de gases equipada con un detector para la captura del electrón ^{63}N (7).

Para la evaluación del efecto del daminozida en la promoción de iniciación floral, se hicieron conteos de flores durante la primavera posterior a la fecha de los tratamientos en 4 ramas de c/u de los árboles experimentales previamente seleccionados

Resultados

Los resultados que se presentan en el Cuadro 1 muestran que el número de flores formadas fue significativamente mayor en ambos años de experimentación en los árboles que recibieron la aplicación del daminozida. Se podrá observar en las Figuras 1 y 2, que el nivel y fluctuación de giberelinas y ácido abscísico fueron muy semejantes en el testigo y en los tratados con el retardante y que no hubo diferencia significativa

El contenido de auxinas en las semillas de los frutos tomados de árboles tratados con el retardante disminuyó significativamente en las muestras tomadas 9 y 21 días después del tratamiento (Figura 3). La figura también muestra en ambos grupos que la actividad biológica fue mayor conforme la semilla fue avanzando en su desarrollo fisiológico. El tratamiento con daminozida indujo aumentos significativos en el contenido de citocininas en las semillas a los 3 y 15 días después de la aspersión (Figura 4). La máxima actividad biológica de estas hormonas en las semillas se observó un día después del tratamiento, mientras que la mínima se obtuvo 70 días después

Discusión

El incremento en el número de flores formadas en los árboles asperjados con daminozida apoyan los reportes de otros investigadores (1, 13, 24) y por lo tanto se confirma que el compuesto químico penetró en los tejidos del frutal causando cambios fisiológicos en él.

Los resultados de los diferentes grupos de hormonas en las semillas de los testigos (Figuras 1-4) indican claramente que durante su desarrollo, estos órganos contienen varias de estas sustancias. Luckwill (11, 12) ha postulado que la aparición y desaparición de hormonas específicas en la semilla, están ligadas con cambios sucesivos en el desarrollo del embrión y endospermo de ésta. Así, la primera fase se caracteri-

Cuadro 1. Efecto del tratamiento con daminozida (2 000 ppm) en la floración (número de flores formadas) del cv. Cox's Orange Pippin. El daminozida se aplicó dos semanas después de la floración en 1977 - y en 1978.

Año de evaluación	Número de flores por árbol ^a	
	Testigo	Daminozida
1978	409 ± 12.8	730 ± 11.8**
1979	303 ± 43.5	837 ± 10.2**

a Cada valor representa el promedio de flores en cuatro ramas/árbol

** El valor es superior al testigo con $P < 0.01$ de error

za por el desarrollo del endospermo libre de núcleo con poco crecimiento del embrión, misma que ocurre en algunos cultivares entre 1 a 4 semanas después de floración y está asociada con la presencia de citocininas (Figura 4) Posteriormente es iniciado el desarrollo del endospermo celular conjuntamente con la aparición de auxinas (Figura 3). La segunda fase del desarrollo es asociada con el crecimiento rápido del embrión, con la digestión nuclear y del endospermo primario y con la formación del endospermo secundario. Los resultados en la Figura 1, confirman la presencia de giberelinas durante esa fase fisiológica

Las fluctuaciones del AAB observadas en el presente trabajo son similares a las reportadas por Gil *et al.* en semillas de pera (5) Los resultados en la Figura 2 sugieren la metabolización de este después del máximo incremento ocurrido 17 semanas posteriores a la floración (20) La baja tan drástica en los niveles de esta hormona observada en la última fecha de muestreo, coincide con los resultados obtenidos por varios autores (16, 20, 26) Con base en los efectos que daminozida produjo en los niveles de hormonas en la semilla y su relación con el proceso de la iniciación de yemas florales, los siguientes puntos son de consideración: Se sabe que las giberelinas son inhibidores del proceso de iniciación floral en manzano (13, 14) y que el daminozida además de estimular la formación de yemas florales reduce los niveles de esas hormonas en ápices de este frutal (8). Sin embargo, en el presente trabajo, aunque se observó un aumento en la formación de flores con el tratamiento del retardante, no hubo cambios significativos en el contenido de esas hormonas Considerando que en este estudio se estimó cuantitativamente el contenido de giberelinas y que en la actualidad se conocen 56 de ellas (G. V. Hoad, comunicación personal), es probable que de las 13 encontradas en semillas de manzano (9, 16) solamente una o varias sean afectadas por el daminozida

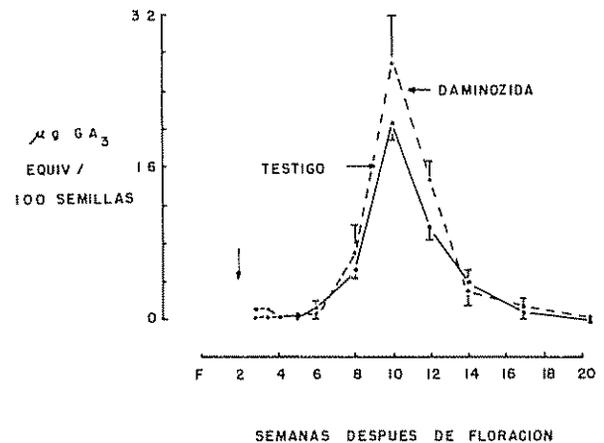


Fig. 1. Niveles de giberelinas en semillas en desarrollo del cv. Cox' Orange Pippin obtenidas de árboles tratados con daminozida (2 000 ppm) o con agua (testigo) dos semanas después de floración. La época de floración (F) y del tratamiento (1) son indicadas. Cada punto representa el promedio de 3 repeticiones. Las diferencias no fueron significativas con un $P < 0.05$ de error

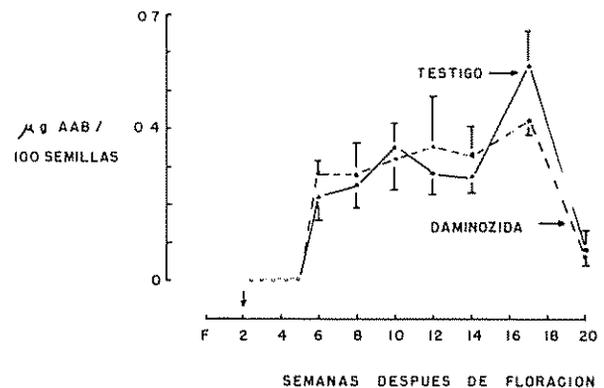


Fig. 2. Niveles de ácido abscísico en semillas en desarrollo del cv. Cox's Orange Pippin obtenidas de árboles tratados con daminozida (2 000 ppm) o con agua (testigo) dos semanas después de floración. Para otros detalles véase la Figura 1.

La disminución en los niveles de auxinas en las muestras tratadas con el daminozida (Figura 3) confirma lo dicho por Jindal y Dalbro (10) quienes observaron menor contenido de esas hormonas en las ramas de manzano después de que los árboles fueron tratados con el retardante de crecimiento.

También Werzilov *et al.* (22) encontraron bajos niveles de auxinas en las yemas de manzano durante la época de su transformación en yemas florales.

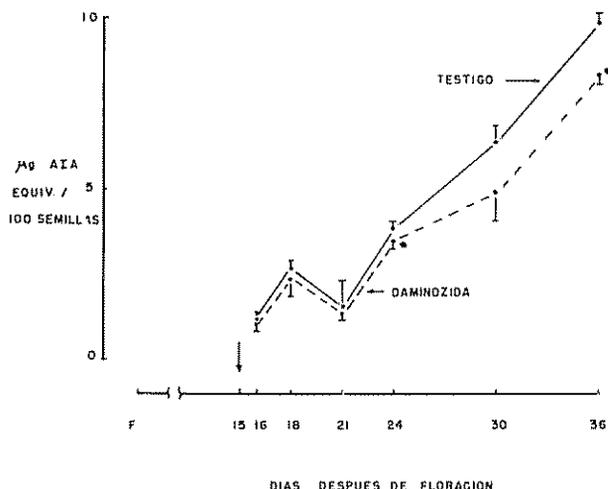


Fig. 3. Niveles de auxinas en semillas en desarrollo del cv. Cox's Orange Pippin obtenidas de árboles tratados con daminozida (2 000 ppm) o con agua (testigo) dos semanas después de floración. Cada punto representa el promedio de 2 repeticiones. Las diferencias significativas al $P < 0.05$ (*) son indicadas. Para otros detalles véase la Figura 1

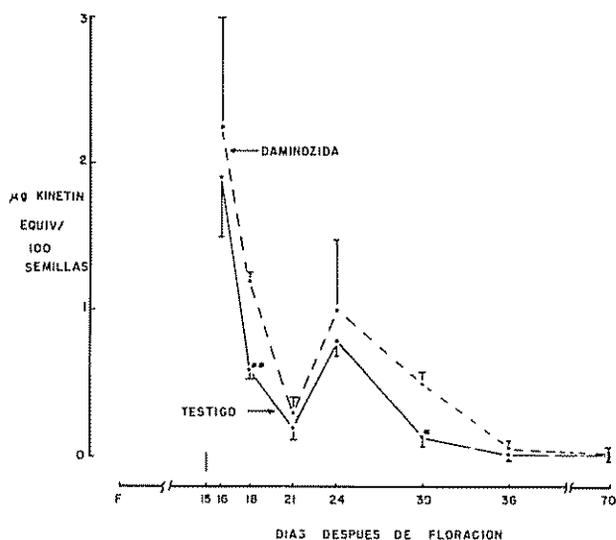


Fig. 4. Niveles de citocininas en semillas en desarrollo del cv. Cox' Orange Pippin obtenidas de árboles tratados con daminozida (2 000 ppm) o con agua (testigo) dos semanas después de floración. Cada punto representa el promedio de 2 repeticiones. Las diferencias significativas al $P < 0.05$ (*) o al $P < 0.01$ (**) son indicadas. Para otros detalles véase la Figura 1

Sobre esta base, es probable que la biosíntesis de las auxinas en las semillas sea bloqueada por el daminozida como lo han demostrado anteriormente Williams y Stahly (25) Por otro lado, los bajos niveles de auxi-

nas en las semillas de las plantas tratadas, se consideran suficientes para satisfacer la demanda ocasionada por el desarrollo de éstas. El tratamiento de daminozida no causó efectos significativos en los niveles del ácido abscísico en las semillas (Figura 2) Aunque la función de éste en el proceso de floración en frutales no se ha aclarado (24), esta hormona se ha relacionado ampliamente en la literatura con los efectos causados por sequía temporal ("Water stress"). El efecto clásico es que esta condición causa un aumento en los niveles de ácido abscísico en los tejidos de plantas (26) Sin embargo, la sequía temporal induce efectos inconsistentes en la floración de frutales ya que en algunos aumenta la formación de yemas florales (13) y en otros las disminuye (17). Por lo tanto no se puede establecer una conclusión sobre la función de esta hormona en el proceso de la iniciación floral.

El efecto causado por el daminozida en las citocininas en semillas de manzano u otros frutales, no ha sido discutido ampliamente por otros autores (16), por lo tanto el aumento en los niveles de estas hormonas causado aparentemente por el retardante (Figura 4) permite ampliar los conocimientos sobre los efectos de este producto en semillas de manzano. Se ha sugerido que las citocininas en su mayoría son sintetizadas en las raíces y transportadas por los vasos leñosos a las partes aéreas del frutal (18). Sin embargo, los experimentos de Ramírez (16) mostraron que los niveles de citocininas en esos tejidos son muy bajos después de la época de floración y no sufren cambio alguno con el tratamiento del retardante. Esto permite sugerir que las citocininas localizadas en las semillas del fruto (Figura 4) posiblemente fueron sintetizadas *in situ*. El significado de éstas en el proceso de iniciación floral en el manzano no está bien documentado, en cambio, en otras especies frutales se ha considerado de vital importancia en la formación de yemas florales. Por ejemplo Srinivasan y Mullins (19) demostraron en *Vitis* sp la transformación de sarmientos en inflorescencias cuando el ápice de éstos fue tratado con citocininas. Por otro lado Grochowska y Karaszewska (6) encontraron un alto nivel de citocininas en ramas de manzano las cuales formaron un mayor número de frutos.

En el presente trabajo no se observó cambio significativo en giberelinas o ácido abscísico en semillas de frutos cuyos árboles fueron tratados con daminozida. Lo contrario ocurrió con auxinas y citocininas las cuales respectivamente sufrieron una reducción y un aumento. La relevancia de estos resultados con el proceso de iniciación floral en manzano requiere de mayor investigación.

Resumen

La aspersión con daminozida (2 000 ppm) a árboles de manzano del cv Cox' Orange Pippin 2 semanas

después de floración, originó un aumento en yemas florales en el siguiente año

Análisis de extractos de semillas tomadas de frutos a diferentes fechas posteriores al tratamiento con daminozida no mostraron cambio alguno en los niveles de giberelinas o ácido abscísico al compararse con los testigos. Sin embargo, se observó una reducción en el contenido de auxinas a los 24 y 36 días después de floración, mientras que el nivel de citocininas aumentó a los 18 y 30 días después de esa fecha.

24 de setiembre de 1982

H. RAMIREZ*
G. V. HOAD**

* Departamento de Horticultura Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", Saltillo, Coahuila, México

** Long Ashton Research Station University of Bristol Bristol BS18 9AF Inglaterra

Literatura citada

1. BATJER, L. P., WILLIAMS, M. W. y MARTIN, G. C. Effects of N-dimethyl amino succinamic acid (B-nine) on vegetative and fruit characteristics of apples, pears and sweet cherries. Proceeding of the American Society of Horticultural Sciences 85:11-16. 1964
2. BENTLEY, J. A. y HOUSLEY, S. Bioassay of plant hormones. *Physiologia Plantarum* 8:405-409. 1954
3. CHALLICE, J. S. Inhibition by phenolic compounds of cytokinin stimulated betacyanin synthesis in *Amaranthus caudatus*. *Biologia Plantarum* (Praha). 19(3):212-218. 1977.
4. FRANKLAND, B. y WAREING, P. F. Effect of gibberellic acid on hypocotyl growth of lettuce seedling. *Nature London* 185:255-256. 1960.
5. GIL, G. F., MARTIN, G. C. y GRIGGS, W. H. Fruit set and development in the pear: Extractable endogenous hormones in parthenocarpic and seeded fruits. *Journal of the American Society of Horticultural Sciences* 97:731-735. 1972.
6. GROCHOWSKA, M. J. y KARASZEWSKA, A. A possible role of hormones in growth and development of apple trees and a suggestion on how to modify their action. *Acta Horticulturae* 80:457-464. 1978.
7. HOAD, G. V. Effect of moisture stress on abscisic acid levels in *Ricinus communis* L. with particular reference to phloem exudate. *Planta* (Berlin) 113:367-372. 1973.
8. HOAD, G. V. y MONSELISE, S. P. Effects of succinic acid 2,2-dimethyl hydrazide (SADH) on the gibberellin and abscisic acid levels in stem tips of M 26 apple root stocks. *Scientia Horticulturae* 4:41-47. 1976.
9. HOAD, G. V. y RAMIREZ, H. La función de las giberelinas sintetizadas en las semillas del fruto para el control de floración en manzano Turrialba 30(3):284-288. 1980
10. JINDAL, K. K. y DALBRO, S. Effect of succinic acid 2,2-dimethylhydrazide on endogenous auxin level in apple shoots. *Physiologia Plantarum* 39:119-122. 1977
11. LUCKWILL, L. C. Studies on fruit development in relation to plant hormones. I: Hormone production by the developing apple seed in relation to fruit drop. *Journal of Horticultural Sciences* 28:14-24. 1953
12. LUCKWILL, L. C. Hormonal aspects of fruit development in higher plants. Symposium of the Society of Experimental Biology XI: 63-85. 1957
13. LUCKWILL, L. C. The control of growth and fruitfulness of apple trees. In: *Physiology of Tree Crops*. L. C. Luckwill y C. V. Cutting eds. Academic Press, 1970. pp. 237-254
14. LUCKWILL, L. C. Growth regulators in flowering and fruit development. Pesticide Chemistry in the 20th century No. 37 of the American Chemistry Society Symposium series, 1977. pp. 293-304
15. LUCKWILL, L. C. y CHILD, R. D. The meadow orchard: A new concept of apple production based on growth regulators. *Acta Horticulturae* 30(1):213-300. 1973.
16. RAMIREZ, H. Effects of growth substances on some physiological processes in apple in relation to flower initiation. Ph.D. Thesis. University of Bristol. England. 1979. p. 191.

- 17 RAMIREZ, H y URIU, K. Efecto de sequía en diferentes épocas en chabacano (*Prunus armeniaca* L.) Publicación Técnica No 1 Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" 1976 p 30
- 18 SKENE, K. G. M. Increases in the levels of cytokinins in bleeding sap of *Vitis vinifera* L. after CCC treatment Science 159:1 477-1 478. 1968.
- 19 SRINIVASAN, C. y MULLINS, M. G. Flowering in *Vitis*. Conversion of tendrils into inflorescences on bunches of grapes Planta 145: 187-192 1979
- 20 TINELLY, E. T., SONDHEIMER, E., WALTON, D. C., GASKIN, P. y MAC MILLAN, J. Metabolites of 2-¹⁴C-*abscisic acid* Tetrahedron Letters 2:139-140 1973.
- 21 TROMP, J. The interaction of growth regulators and three orientation on fruit-bud formation in apple. Acta Horticulturae 34:185-188 1973.
- 22 WERZILOV, W. F., PLOTNIKOVA, I. V. y ALEXANDROVA, W. S. Growth regulators in relation to apple bud differentiation Acta Horticulturae 80:175 1978
23. WHYTE, P. y LUCKWILL, L. C. A sensitive bioassay for gibberellins based on retardation of leaf senescence in *Rumex obtusifolius* (L). Nature London 210:1 360. 1966
- 24 WILLIAMS, M. W. Chemical control of vegetative growth and flowering in apple trees Acta Horticulturae 34:167-173 1973
- 25 WILLIAMS, M. W. y STAHLY, E. A. Effect of cytokinins on apple shoot development from axillary bud. Journal of Horticultural Sciences 40:31-41. 1968
- 26 WRIGHT, S. T. C. Phytohormones and strees phenomena. In: Phytohormones and Related Compounds. A Comprehensive Treatise, III D. S. Letham, P. B. Goodwin y T. J. V. Higgins eds. Elsevier/North Holland Biomedical Press. 1978 pp 495-536.

Interacciones entre el Acido Succínico 2,2 – Dimetil Hidrazida (Daminozida) y otras Hormonas en la Iniciación Floral del Manzano.

Summary. Spur defolating, defruiting and daminozide sprays have been carried out in combinations with injections of different hormones to spurs of the apple cultivar Egremont Russett and their effects on flower bud formation determined. Gibberellin application tended to inhibit flower initiation but cytokinins, particularly zeatin, strongly promoted flower initiation when applied alone or in combination with daminozide. The results are discussed in terms of the role of hormones on flower initiation in apple

Se ha demostrado que en manzano la capacidad de un dardo para formar yemas florales es disminuida cuando se eliminan las hojas en el formadas (1) Este efecto es menor si la eliminación de hojas en el dardo se efectúa a partir de 6 semanas posteriores a la floración completa (8) Aunque existe esta evidencia, la función que tienen las hojas en el proceso de iniciación floral no ha sido aclarado suficientemente (1) Una hipótesis sobre la acción de estos órganos ha sido postulada por Jackson y Sweet (7), quienes han sugerido que estas actúan como productoras de alimento necesario para la formación de flores. Sin embargo, se ha observado en experimentos con ¹⁴CO₂, que aquellos dardos que carecen de hojas, contienen suficientes carbohidratos, los cuales se presume son transportados desde las hojas de dardos localizados en otros puntos distantes en la misma rama (9)

Por lo tanto, otras alternativas quizá más aceptables serían que las hojas en el dardo podrían sintetizar una o más hormonas necesarias para la iniciación del proceso floral o bien que su función sea la de redistribuir en la yema meristemática del dardo aquellas hormonas responsables de la iniciación floral, si acaso fueran sintetizadas en otras partes del árbol (11)

Se ha notado también la inhibición de la iniciación floral en dardos de manzano cuando existe la presencia de frutos con semillas (5) Estos resultados fueron discutidos en términos de hormonas endógenas, las cuales se piensa son producidas en las semillas en desarrollo (10, 12) Por lo tanto, en este trabajo se investigó la posible función de diferentes hormonas en el proceso de iniciación floral en manzano.

Materiales y métodos

El presente trabajo se llevó a cabo en la Estación Experimental de Long Ashton, en Bristol, Inglaterra. Setenta y dos árboles de siete años de edad del cv Egremont Russet/MM 106 plantados en recipientes con arena (30 cm de diámetro x 25 cm de altura) fueron distribuidos en un diseño factorial (2x2x2x6x3), utilizando un árbol como unidad experimental. Los árboles fueron divididos en dos grupos. Uno fue