

# La función de las giberelinas sintetizadas en las semillas del fruto para el control de la floración en manzanos\*

G. V. HOAD\*\*, H. RAMIREZ\*\*\*

## ABSTRACT

*Diffusates collected from apple fruitlets during the period prior to flower initiation have shown that more gibberellins move out of biennial flowering cultivars than from those which flower regularly. Within any one cultivar the amount of gibberellin in diffusates was dependent on the number of seeds in the fruit, but between cultivars this was not the case. Applying tritiated gibberellins to seeds of fruit attached to the tree confirm that in 'Laxton's Superb', a strongly biennial flowering cultivar, more gibberellin moves out of the fruit than in the more regular bearing 'Cox's Orange Pippin'. The possible involvement of gibberellins diffusing from fruits in the inhibition of flower initiation is discussed.*

### Introducción

La fisiología de la floración en pomáceas y en especial el fenómeno de vecería o alternabilidad ha sido ampliamente estudiado (1, 2, 9, 12, 14). En algunos cultivares de manzano y peral, es común observar la reducción de iniciación floral cuando existe la presencia en el árbol de un gran número de frutos, lo cual induce a la tendencia de producciones irregulares año tras año (2).

Se ha comprobado que se precisa de semillas dentro del fruto para que éste antagonice el proceso de iniciación floral. Esto es evidente al observarse una floración normal en manzanos cuyos frutos son partenocárpicos (1). Por otra parte, se sabe de la inhibición de formación de flores en manzano cuando los árboles han sido tratados con giberelinas (7). Se ha demostrado también la presencia de altos niveles de giberelinas en semillas de esta especie frutal durante las diferentes fases de su desarrollo (12).

Se ha postulado que el efecto inhibitorio debido a las semillas del fruto en el proceso de iniciación floral, ocurre cuando las giberelinas contenidas en éstas emigran del fruto, y pasando por el pedicelo de éste, llegan al dardo donde se localiza la yema meriste-

mática, inhibiendo su capacidad de convertirse en yema floral (11).

Aunque se ha comprobado que el material radioactivo incorporado a semillas de frutos aún adheridos al dardo es transportado hasta los tejidos del mismo (6), la información sobre el transporte de hormonas fuera del fruto es aún muy limitada (5).

El hecho de demostrar una relación inversa entre los niveles de giberelinas emigradas de las semillas del fruto hasta el dardo y la capacidad de floración, permitirá hasta cierto punto explicar el efecto de inhibición en la iniciación floral causado por frutos con semillas en manzano. Sobre esta base, el objeto del presente trabajo fue estudiar el transporte de hormonas fuera del fruto utilizando cápsulas con agar para recogerlas por difusión. Para confirmar si este experimento refleja lo que en realidad sucede en el sistema, fueron incorporadas hormonas radioactivas a semillas de frutos en cultivares con alternabilidad y con producción regular y se estudió su transporte desde la semilla hasta el dardo.

### Materiales y Métodos

#### Cultivares de Manzano

Los cultivares empleados fueron: con alternabilidad, 'Laxton's Superb/MM 106' y 'Tremlett's Bitter/Crab C' en plantaciones de 17 y 27 años respectivamente; con producción más regular 'Cox's Orange Pippin/MM 106', 'Worcester Pearmain/M 2', 'Laxton's Epicure/MM 106' y 'Spencer Seedless/MM 106' en plantaciones de 13, 19, 13 y 10 años respectivamente. Debido a que este último cultivar muestra características partenocárpicas, algunos árboles fueron polinizados manualmente, con el propósito de incrementar el número de semillas por fruto.

\* Recibido para publicación el 14 de diciembre de 1979. Los autores agradecen a S. Donaldson, Long Ashton Research Station, Inglaterra, por su asistencia técnica; al Dr. M. Noma y al Profr. R. P. Pharis, University of Calgary, Canadá por la preparación de las giberelinas radioactivas; y al CONACYT de México por el apoyo financiero a H. Ramírez.

\*\* Long Ashton Research Station, Long Ashton Bristol BS18 9AF, England.

\*\*\* Depto. de Horticultura, UAAAN, Saltillo, Coah. MEXICO

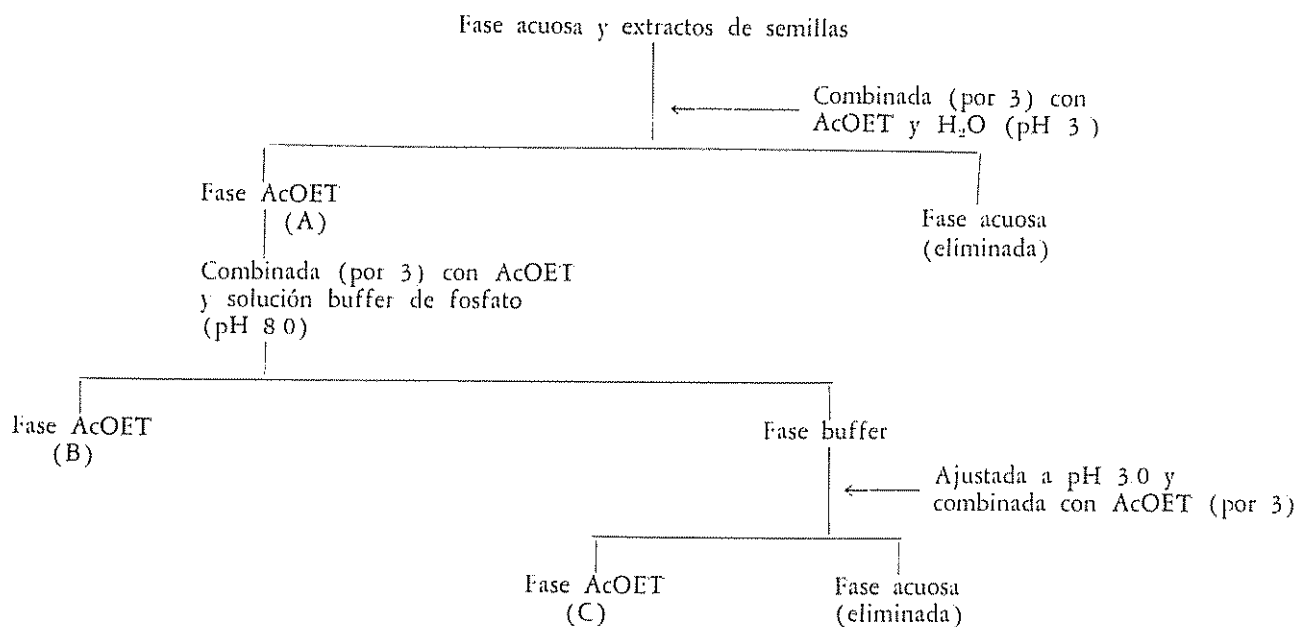
### Material endógeno y semillas Purificación

El material endógeno para analizar giberelinas fue extraído de frutos en desarrollo recogidos en el período comprendido entre floración y 12 semanas después de la misma. Después de la toma de muestras de los frutos, las semillas de estos fueron extraídas para examinar su contenido de giberelinas. Para la extracción de material endógeno, se utilizaron cápsulas "Taab" de polipropileno llenas con una solución de 1 por ciento de agar (iónico); estas fueron insertadas en cada uno de los pedicelos de 50 frutos inmediatamente después de separarlos de los árboles de cada cultivar empleado. Los frutos con las cápsulas fueron transferidos a un cuarto oscuro con temperatura de 20° C donde se conservaron por 24 horas. Posteriormente, mediante la técnica del vacío, el agar fue extraído de las cápsulas y congelado por

24 horas, a una temperatura de -18° C. (10). Las semillas extraídas de los frutos fueron almacenados a la misma temperatura.

Para separar las hormonas del agar, una vez descongelado este, se mezcló con metanol al 80 por ciento agitando la solución cada media hora durante un lapso de 6 horas (este paso se repitió tres veces en cada muestra); posteriormente fue filtrada y se obtuvieron las hormonas dentro de la fase metilica. La fase metilica fue enseguida convertida a fase acuosa usando un evaporador rotativo "Buchi", las semillas fueron posteriormente congeladas en seco, pulverizadas y las hormonas separadas con dicloro metano y cloroformo (12).

La purificación de la fase acuosa y de los extractos de semillas se efectuaron por decantación con solventes, según el siguiente procedimiento:



Las giberelinas presentes en las fases A, B y C fueron nuevamente purificadas, esta vez por cromatografía de capa fina (Kieselgel G) utilizando isopropanol: amoníaco: agua (10:1:1 v/v/v) como solvente. Experimentos preliminares mostraron que la actividad biológica en este solvente se localiza en la zona que corresponde a Rf's de 0.3 - 0.9.

### Ensayos biológicos

Cada una de las muestras obtenidas en la cromatografía de capa fina, fue analizada para la identificación cuantitativa de giberelinas, para lo cual se utilizaron los bioensayos de la elongación del hipocotilo de lechuga (*Lactuca sativa* L., cv. 'Arctic King') de-

sarrollada por Frankland y Wareing (4) o bien los de la senescencia de la hoja de *Rumex obtusifolius* L. (15).

### Aplicación de giberelinas radioactivas a semillas de frutos en desarrollo

Este proceso se llevó a cabo durante 10 semanas después de la floración. Las giberelinas [<sup>3</sup>H]GA<sub>3</sub>, [<sup>3</sup>H]-GA<sub>1</sub> y [<sup>3</sup>H]GA<sub>20</sub> fueron disueltas en 50 por ciento etanol y aplicadas (2,5 μCi/fruto) a las semillas del fruto (2 por dardo) previamente expuestas separando la parte media baja del fruto. Las hormonas fueron inyectadas en un μl de las soluciones ya mencionadas. Después de la aplicación, la mitad del fruto anteriormente separada fue puesta nuevamente en su lugar uniéndola al resto del fruto con cinta adhesiva.

Posteriormente a un período de 48 horas, los dardos fueron separados del árbol; las hojas y los frutos puestos aparte, para luego dividirlos en yema meristemática y resto del dardo. La radioactividad en cada uno de estos tejidos fue separada con 80 por ciento de metanol y analizada cuantitativamente por *sentelle* (13).

### Resultados y discusión

La actividad biológica obtenida en las muestras correspondientes al material endógeno recogido del fruto mediante la técnica de difusión en los distintos cultivares se presenta en las Figs. 1-3. Los histogramas en la Fig. 1 muestran que aunque semanalmente hubo variación en la actividad de giberelinas en cada cultivar durante el período anterior a iniciación floral, se encontró una mayor actividad biológica en las muestras del cultivar con alternabilidad 'Laxton's Superb' que en las del cultivar más regular 'Cox's Orange Pippin'.

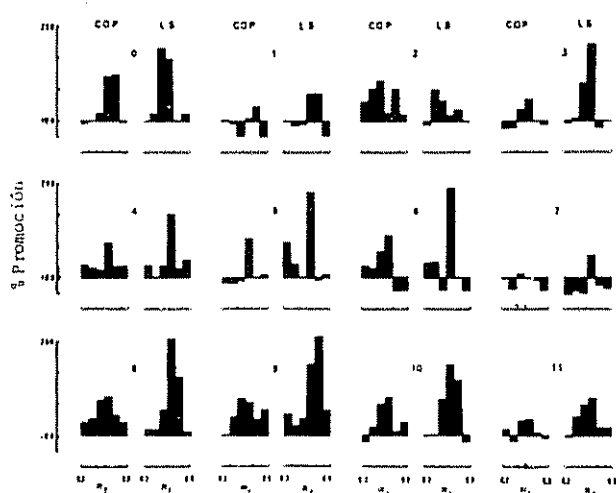


Fig. 1.—Actividad biológica de las giberelinas obtenidas en el material endógeno por difusión de los frutos recogidos de los cvs. Cox's Orange Pippin (C. O. P.) y Laxton's Superb (L. S.) Los histogramas muestran la actividad (ensayo biológico del Rumex) sobre la cromatografía de capa fina correspondiente a los Rf's 0.3 - 0.9. Las fechas de recogida de muestras (semanas después de floración) también se indican.

En el cultivar apétalo 'Spencer Seedless', las muestras obtenidas de frutos cuyas flores fueron polinizadas manualmente, mostraron mayor actividad biológica de giberelinas que en aquellos con polinización abierta (Fig. 2). El número de semillas por fruto fue respectivamente de  $3,0 \pm 0,4$  y de  $1,1 \pm 0,2$  para los polinizados manual y abiertamente. Estos resultados reflejan una correlación positiva entre al aumento de giberelinas transportadas fuera del fruto y el número de semillas para este cultivar.

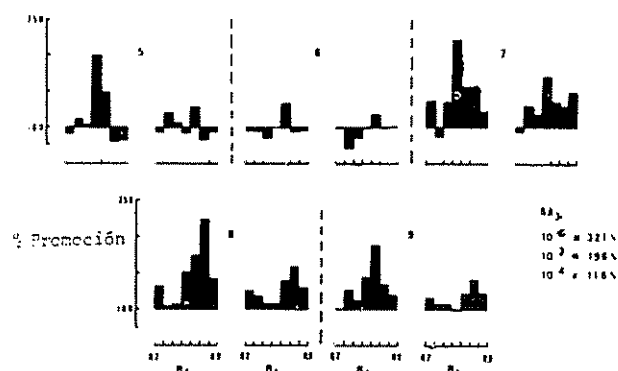


Fig. 2.—Actividad biológica de giberelinas (prueba del Rumex) en material endógeno obtenido por difusión en frutos del cv. Spencer Seedless polinizados artificialmente (histogramas en la izquierda) o dejados con polinización natural (histogramas en la derecha). El período de recolección de muestras fue entre 5 y 9 semanas posteriores a floración. Para otros detalles véase la Fig. 1.

La actividad biológica de giberelinas en el material endógeno en frutos de los cultivares 'Worcester Pearmain', 'Tremlett's Bitter' y 'Laxton's Epicure' son presentados en la Fig. 3. Se puede observar que la actividad biológica de estas hormonas fue mayor en 'Tremlett's Bitter' (con mayor alternabilidad) mientras que la menor la tuvo el cultivar 'Worcester Pearmain'. La actividad total en 'Laxton's Epicure', caracterizado por su gran número de semillas, fue relativamente menor a la encontrada en 'Tremlett's Bitter'.

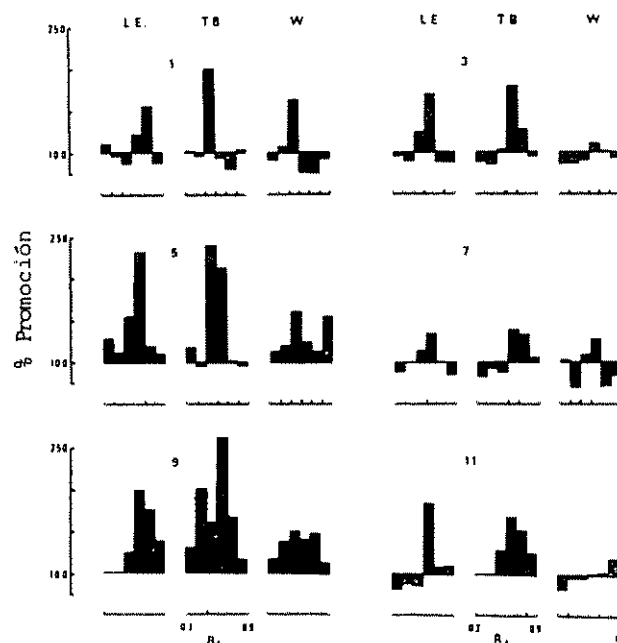


Fig. 3.—Actividad biológica de giberelinas (prueba del Rumex) en material endógeno obtenido por difusión en frutos de los cvs. 'Laxton's Epicure' (L. E.), 'Tremlett's Bitter' (T. B.) y 'Worcester Pearmain' (W). La toma de muestras se efectuó entre 1 y 11 semanas posteriores a floración. Para otros detalles véase la Fig. 1.

De las giberelinas radioactivas aplicadas a los dardos de manzano, la GA<sub>3</sub> no se ha identificado endógenamente en semillas, mientras que las GA<sub>4</sub> y GA<sub>7</sub> han sido ya mencionadas utilizando cromatografía de gases y espectroscopía de masas (8, 13). El Cuadro 1 muestra mayor transporte de [<sup>3</sup>H]-GA<sub>3</sub>

Las diferencias en la cantidad de giberelinas transportadas fuera del fruto entre 'Laxton's Superb' y 'Cox's Orange Pippin' (Fig. 1) no se pueden explicar con base en la diferencia en los niveles de estas hormonas en las semillas del fruto. Como se podrá observar en el Cuadro 2, los niveles de giberelinas

Cuadro 1.—Actividad radioactiva en tejidos de dardos 48 horas después de la aplicación de 2,5µCi de [<sup>3</sup>H]-GA<sub>3</sub> o [<sup>3</sup>H]-GA<sub>4</sub> a semillas de frutos de los cvs. Laxton's Superb y Cox's Orange Pippin.

	Conteos/min /100 mg p s ± e s					
	[ <sup>3</sup> H]-GA <sub>3</sub>			[ <sup>3</sup> H]-GA <sub>4</sub>		
	yema meristemática	Resto del dardo	Total	yema meristemática	Resto del dardo	Total
Laxton's Superb	96 ± 14	364 ± 18	460	80 ± 4	481 ± 12	561
Cox's Orange Pippin	63 ± 10	126 ± 26	189	72 ± 6	213 ± 16	285
	n s	**	**	n s	**	**

Entre columnas las diferencias significativas al P=0,01(\*\*) o no significativas (n s) son indicativas

y [<sup>3</sup>H] GA<sub>4</sub> en el cv. 'Laxton's Superb' que en 'Cox's Orange Pippin'. Estos resultados coinciden con los encontrados en el material endógeno (Fig. 1). Los tejidos del dardo en los que [<sup>3</sup>H]-GA<sub>3</sub> fue inyectado a las semillas, no mostraron ninguna radioactividad, incluso después de 72 horas. Estos resultados y los de otro investigador (Hoad, sin publicar) sugieren que para que se active el transporte de esta hormona es necesario que ocurra primero una hidroxilación en su molécula.

Cuadro 2.—Niveles de giberelinas en semillas de los cvs. Cox's Orange Pippin y Laxton's Superb.\*

Toma de muestras Semanas posteriores a floración	µg. equiv. GA <sub>3</sub> /10 frutos	
	Cox's Orange Pippin	Laxton's Superb
3	0,00	0,00
5	0,00	0,00
6	0,06	0,08
7	0,05	0,09
8	0,12	0,14
9	1,04	1,01
10	1,20	1,24
11	1,02	1,25

\* Los resultados fueron obtenidos al calcular la actividad biológica (prueba del hipocotilo de la lechuga) con base en la curva de calibración de ácido giberélico preparada con anterioridad.

en las semillas de ambos cultivares (utilizando el ensayo del hipocotilo de la lechuga) fue muy similar.

Sin embargo, otro factor importante que podría influir en la cantidad de giberelinas transportadas fuera del fruto hacia los tejidos del dardo, es la longitud del sistema vascular entre la base de la semilla y el dardo. En el Cuadro 3 se muestra la longitud del sistema vascular y el número de semillas en los frutos de los cultivares utilizados en este trabajo. Se podrá observar en estos resultados que a pesar de la mayor longitud en el sistema vascular del 'Laxton's Superb' comparado al de 'Cox's Orange Pippin' (significativo al 5%) y ambos estadísticamente iguales en el número de semillas, mayor cantidad de giberelinas son transportadas fuera de los frutos del primer cultivar que del segundo (Fig. 1). Lo mismo ocurre al comparar 'Tremlett's Bitter' con 'Worcester Pearmain' (Fig. 3). El cultivar 'Laxton's Epicure' presenta un sistema vascular largo y un gran número de semillas en el fruto; es posible que el hecho de tener un pedicelo largo aumente la resistencia y por lo tanto disminuya la capacidad en el flujo para el transporte de las giberelinas desde las semillas hasta los tejidos del dardo.

Por lo tanto, entre cultivares no se encontró una correlación entre el número de semillas o la longitud del pedicelo del fruto y el flujo de giberelinas. Solamente en el cultivar 'Spencer Seedless' se obtuvo una correlación positiva entre el número de semillas y la cantidad de giberelinas transportadas fuera del fruto.

Los resultados obtenidos en este trabajo, comparados con los expuestos por otros autores (1, 5, 14), indican lo siguiente:

En cultivares de manzano en los que la formación de yemas florales es baja, o nula cuando existe

Cuadro 3—Longitud del tejido vascular entre la semilla y el dardo. Número de semillas por fruto en varios cultivares de manzano.

Cultivar	Longitud vascular (mm)	Nº semillas por fruto
<i>Floración con alternabilidad</i>		
Tremlett s Bitter	17,1 ± 0,3	4,9 ± 0,1
Laxton s Superb	22,0 ± 0,9	4,5 ± 0,6
Spencer Seedless*	14,2 ± 0,3	3,0 ± 0,1
	(26% de frutos con semilla)	
<i>Floración regular</i>		
Worcester	18,9 ± 0,8	6,4 ± 0,1
Cox's Orange Pippin	15,3 ± 0,5	3,8 ± 0,3
Laxton s Epicure	35,6 ± 1,1	9,1 ± 0,7
Spencer Seedless	14,5 ± 0,1	1,1 ± 0,2
	(18% de frutos con semilla)	

\* Polinizados artificialmente para aumentar el número de frutas con semillas.

en el árbol la presencia de frutos con semilla, los tejidos del dardo de cultivares con alternabilidad reciben mayor cantidad de giberelinas a través del pedicelo, que en aquellos cuya capacidad de producción es más regular. Debido a que se ha demostrado que los tratamientos de ácido giberélico a árboles de manzano y peral inhiben la formación de yemas florales (3), es posible que las giberelinas endógenas transportadas al tejido del dardo funcionen en una forma semejante.

#### Literatura citada

1. CHAN, B. G. y CAIN, J. C. The effect of seed formation on subsequent flowering in apple. *Proceedings of the American Society of Horticultural Sciences* 91:63-68. 1967.
2. DAVIS, L. D. Flowering and alternate bearing. *Proceedings of the American Society of Horticultural Sciences* 70:545-546. 1952.
3. DENNIS, F. G., Jr y EDGERTON, L. J. Effects of gibberellins and ringing upon apple fruit development and flower bud formation. *Proceedings of the American Society of Horticultural Sciences* 88:14-21. 1966.
4. FRANKLAND, V. y WAREING, P. F. Effect of gibberellic acid on hypocotyl growth of lettuce seedlings. *Nature (London)* 185:255-256. 1960.
5. GIL, G. F. MARTIN, G. C. y GRIGGS, W. H. Fruit-set and development in the pear: diffusible growth substances from seeded and seedless fruit. *Journal American Society of Horticultural Sciences* 98:51-54. 1975.
6. GROCHOWSKA, M. J. Translocation of indole-3-acetic acid-2<sup>14</sup>C injected into seeds of five-week-old apple fruits. *Bulletin of the Academy of Biological Sciences Poland* 16:577-580. 1974.
7. GUTTRIDGE, C. G. Gibberellic acid on apples. Report of the Scottish Horticultural Research Institute (1961-1962): 49. 1962.
8. HOAD, G. V. The role of seed-derived hormones in the control of flowering in apple. *Acta Horticulturae* 80:93-103. 1978.
9. HUET, J. Etude des effets des feuilles et des fruits sur l'induction florale des brachyblastes du poirier. *Physiologie Vegetal* 10:529-545. 1962.
10. JONES, R. L. y PHILIPPS, I. D. J. Agar-diffusion technique for estimating gibberellin production by plant organs. *Nature (London)* 204:497-499. 1961.
11. LUCKWILL, L. C. The control of growth and fruitfulness of apple trees. In: *Physiology of Tree Crops*. Editores Luckwill, L. C. y Cutting, C. V. 1970. pp 237-254.
12. LUCKWILL, L. C. WEAVER, P. y MACMILLAN, J. Gibberellins and other growth hormones in apple seeds. *Journal of Horticultural Sciences* 44:413-424. 1969.
13. RAMIREZ, H. Effects of growth substances on some physiological processes in apple in relation to flower initiation. Ph. D. Thesis. Long Ashton, Research Station. University of Bristol, England. 1979. 191 p.
14. TUMANOV, I. I. y GAREEV, E. Z. Effect of fruiting organs on the mother plant. *Trudy Institute of Plant Physiology Timirjazeva* 7:22-108. 1951.
15. WHYTE, P. y LUCKWILL, L. C. A sensitive bioassay for gibberellins based on retardation of leaf senescence in *Rumex obtusifolius* L. *Nature (London)* 210:1360. 1966.

# ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION

ORGANO OFICIAL DE LA  
SOCIEDAD LATINOAMERICANA DE NUTRICION

VOL. XXX

JUNIO 1980

Nº 2

## CONTENIDO:

	Pág.
EDITORIAL .....	163
ARTICULOS GENERALES	
Estado actual de la enseñanza superior de la tecnología de alimentos en la Argentina, con referencia al lugar de la nutrición en los planes de estudio. — <i>Alfredo Salibián y Nelda Marcilla de Parada</i> .....	171
TRABAJOS DE INVESTIGACION	
Efecto de diferentes tratamientos dietéticos sobre el consumo de dietas a base de tubérculos y leguminosas. — <i>Walter S. Jorge João, Luiz G. Elías y Ricardo Bressani</i> .....	187
Métodos de eliminación de alcaloides en la semilla de <i>Lupinus mutabilis</i> , Sweet. — <i>Félix Torres Tello, Alejandrina Nagata y Walter Dreifuss Spiegel</i> .....	200
Morphometric study of the effect of hypervitaminosis A on the sublingual gland of the rat. — <i>Ruveral A. Lopes, José Renán V. da Costa, Geraldo Maia Campos, Sérgio O. Petenuscí and Ana María Piccolo</i> .....	210
Utilización de la proteína proveniente de subproductos agropecuarios en la alimentación de la trucha arco iris <i>Salmo gairdnerii</i> durante el período de alevinaje. — <i>Jorge Grumberg N., Miguel Burgos W. y Osvaldo González C.</i> .....	223
Evaluación química de harinas de morro o jícara ( <i>Crescentia alata</i> ) preparadas por ensilaje y/o deshidratación. — <i>Roberto A. Gómez-Brenes, Irma Contreras, J. Edgar Braham y Ricardo Bressani</i> .....	236
Influencia del medio en la desnutrición infantil. — <i>M. L. Alvarez, J. Alvear, L. Cousiño y M. T. Saitúa</i> .....	254
GRUPO PERMANENTE DE TRABAJO DE LA SLAN EN SISTEMAS DE VIGILANCIA ALIMENTARIA-NUTRICIONAL .....	265
CARTAS AL EDITOR .....	273
BIBLIOGRAFIA LATINOAMERICANA .....	279
NUEVOS LIBROS .....	283
NOTAS .....	287
CONTENIDO DE LA REVISTA TURRIALBA: Volumen 30, enero-marzo 1980, Nº 1 ..	291
INFORMACION PARA LOS AUTORES .....	293