

UNIVERSIDAD DE GRANADA



PROV. 7-15/108

T
15
144

UNIVERSIDAD DE GRANADA
Facultad de Ciencias
Fecha 3-7-95
ENTRADA NUM. 1434

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL

EFFECTO DE LOS BIORREGULADORES SOBRE LA CALIDAD DE FRUTOS Y ALGUNOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS EN PLANTAS DE PIMIENTO (*Capsicum annuum* L. var. Lamuyo)

TESIS DOCTORAL

AMAL BELAKBIR

BIBLIOTECA	UNIVERSITARIA
GRANADA	
Nº Documento	59685705
Nº Copia	21235910

Granada, Junio 1995

UNIVERSIDAD DE GRANADA
27 JUN. 1995
COMISION DE DOCTORADO

El presente trabajo de investigación: "Efecto de los biorreguladores sobre la calidad de frutos y algunos parámetros fisiológicos en plantas de pimiento *Capsicum annuum* L. var. Lamuyo" se ha realizado bajo la dirección del profesor D. Luis M^a Romero Monreal por la licenciada Amal Belakbir, para aspirar al grado de doctor.

Este trabajo ha sido realizado en el Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Ciencias, para su realización se ha contado con una beca del Ministerio de Asuntos de Exteriores (ICMA) concedida a la doctoranda.



Director de la tesis

Dr. Luis M^a Romero Monreal



Aspirante al grado de doctor

Amal Belakbir

INDICE

INDICE

1.-	Objetivos.....	1
2.-	Introducción.....	3
2.1.-	Generalidades.....	3
2.2.-	Histórico del uso de los biorreguladores.....	3
2.3.-	Aplicación actual de los biorreguladores.....	7
2.4.-	Ejemplo de utilización de biorreguladores: Caña de azúcar.....	9
2.5.-	Inhibidores del crecimiento y su utilidad como biorreguladores.....	11
2.6.-	Reguladores del crecimiento y su utilidad como biorreguladores.....	13
2.6.1.-	Respuesta de las plantas a las giberelinas.....	15
2.6.2.-	Respuesta de las plantas a las citokininas.....	16
2.7.-	Biorreguladores y sus efectos sobre los nutrientes minerales.....	16
2.8.-	Efecto de los biorreguladores sobre la composición de la planta.....	19
2.9.-	Efecto de los nutrientes sobre los reguladores de crecimiento.....	20
2.10.-	Papel fisiológico de las hormonas sobre las plantas.....	21
2.10.1.-	Papel fisiológico de las giberelinas.....	22
2.10.2.-	Papel fisiológico de las citoquininas.....	25

2.11.- Papel de los biorreguladores en la aliviación del estres.....	27
3.- Material y métodos.....	29
3.1.- Características del cultivo.....	29
3.1.1.- Especie estudiada.....	29
3.1.1.1.- Generalidades.....	29
3.1.1.2.- Encuadramiento taxonómico y descripción botánica.....	30
3.1.1.3.- Expansión del cultivo de pimiento.....	32
3.2.- Características de las parcelas.....	33
3.2.1.- Tratamientos o parcelas.....	34
3.3.- Parámetros ambientales.....	36
3.4.- Análisis de la planta.....	36
3.5.- Plantas.....	38
3.5.1.- Toma de muestras vegetales y su preparación.....	38
3.5.2.- Preparación de las hojas para material fresco.....	38
3.5.2.1.- Material vegetal fresco.....	39
3.5.2.1.1.- Proteínas solubles.....	39
3.5.2.1.2.- Aminoácidos solubles.....	39
3.5.2.1.3.- Actividades enzimáticas.....	39
3.5.2.1.3.1.- Nitrato reductasa.....	39
3.5.2.1.3.1.1.- ANR endógena.....	40
3.5.2.1.3.1.2.- ANR inducida con nitratos.....	40

3.5.2.1.3.1.3.- ANR infiltrada con Mo.....	41
3.5.2.1.3.2.- Nitrato reductasa "in-vitro".....	41
3.5.2.1.3.3.- Nitrito reductasa "in-vitro".....	41
3.5.2.2.- Material vegetal seco.....	42
3.5.2.2.1.- Digestión sulfúrica.....	42
3.5.2.2.2.- Determinaciones.....	42
3.5.2.2.2.1.- Nitrógeno orgánico.....	42
3.5.2.2.3.- Extracción de formas solubles iónicas.....	43
3.5.2.2.3.1.- En medio ácido.....	43
3.5.2.2.3.2.- Con medio acuoso.....	43
3.5.2.2.3.3.- Determinaciones.....	44
3.5.2.2.3.3.1.- Amónio.....	44
3.5.2.2.3.3.2.- Nitratos.....	44
3.5.2.2.3.3.3.- Cloruros.....	44
3.5.3.- Preparación del material de fruto.....	44
3.5.3.1.- Pigmentos.....	45
3.5.3.1.1.- Clorofilas.....	45
3.5.3.1.2.- Carotenos.....	45
3.5.3.2.- Acido ascórbico.....	45
3.5.3.3.- Acido cítrico.....	46
3.5.3.4.- Acidez iónica.....	46
3.5.3.5.- Firmeza de fruto.....	46
3.5.3.6.- Compuestos sólidos solubles.....	47
3.5.4.- En material seco.....	47
3.5.4.1.- Hidratos de carbono.....	47

3.6.- Productividad.....	48
4.- Resultados y discusión.....	49
4.1.- Producción y parámetros de calidad de fruto.....	49
4.1.1.- Producción.....	49
4.2.- Calidad de fruto.....	55
4.2.1.- pH del fruto.....	55
4.2.2.- Acido ascórbico y cítrico.....	57
4.2.3.- Firmeza del fruto.....	59
4.2.4.- Concentración de compuestos sólidos solubles.....	60
4.2.5.- Pigmentos.....	64
4.2.6.- Carbohidratos.....	68
4.2.7.- Evolución de los carbohidratos.....	71
4.3.- Parametros de Nitrógeno.....	72
4.3.1.- Fracciones de N.....	72
4.3.1.1.- En hojas.....	72
4.3.2.- Actividad Nitrato reductasa "in-vivo".....	81
4.3.2.1.- ANR endógena (ANR end.).....	81
4.3.2.2.- ANR inducida con NO ₃ (ANR ind.).....	83
4.3.2.3.- ANR infiltrada con Mo (ANR inf.).....	85
4.3.3.- Actividad nitrato reductasa "in-vitro".....	87
4.3.4.- Actividad nitrito reductasa "in-vitro".....	91

4.4.- Cationes y sus indicador bioquímico.....	93
4.4.1.- Actividad piruvato kinasa.....	93
4.- Conclusiones.....	101
5.- Bibliografía.....	103

OBJETIVOS

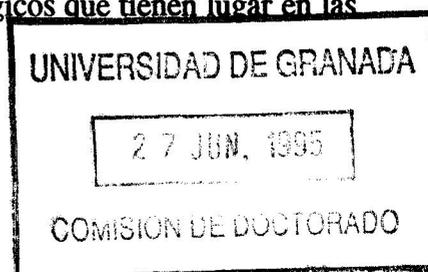
1.- OBJETIVOS

Debido al desarrollo de las técnicas de los cultivos en la actualidad, se intenta cada vez más mejorar la producción tanto de las plantas hortícolas como la de árboles frutales mediante, control de semillas, uso de variedades resistentes a las enfermedades, utilización de los fertilizantes, este último factor que se utiliza de forma abusiva en algunas zonas, por falta de conocimiento por parte de los agricultores.

En España, se considera la superficie dedicada a los cultivos de pimiento muy grande, puesto que constituye un 50% respecto a la Unión Europea. El 50% de esta superficie se concentra en Andalucía y principalmente en los invernaderos de la costa Almeriense, zona bajo estudio en el presente trabajo. En estos invernaderos es más común el uso de fertilizantes (N, P y K) que con el tiempo y junto con la alta concentración de sales disueltas presentes en el agua de riego y suelo, hacen que algunas veces, la planta presenta complicaciones a nivel fisiológico que repercute por lo tanto a la producción.

Otra técnica que se ha desarrollado en los últimos diez años, es la del uso de los reguladores de crecimiento comerciales o biorreguladores, en Europa y Estados Unidos, algunos compuestos han tenido mucho éxito económico y han implicado muchos efectos rápidos y beneficiosos para el agricultor, entre otros podemos citar la mejora de la calidad y cantidad de la producción, inducción de la floración, incremento del tamaño de los frutos, inhibición del crecimiento vegetativo para plantas como cereales y algodón, atrasar la senescencia de la planta etc..

Por otra parte, hay que señalar que existe un gran abanico de biorreguladores en cuanto a la composición y por lo tanto muchas respuestas por parte de las plantas. Se conoce una multitud de cambios morfológicos producidos en varias especies de plantas hortícolas y árboles frutales, pero no se sabe con profundidad la influencia de los biorreguladores sobre el metabolismo y los cambios fisiológicos que tienen lugar en las



plantas tratadas, existen pocos estudios sobre el tema, por lo tanto queda este campo muy abierto para los investigadores.

El hecho que los biorreguladores tengan un papel en el control maduración y producción, con vistas a su recolección, conservación y comercialización siguiendo las exigencias del mercado, por lo que estimamos de gran importancia y esencialidad un conocimiento de la fisiología y bioquímica de las plantas de pimiento. Debido a la falta de estos conocimientos, en nuestra experiencia se aplicaron ocho distintos tratamientos de biorreguladores, con el fin de comparar la respuesta de las plantas, a nivel de todos los parámetros que se van a determinar a lo largo del cultivo. Estos parámetros incluyen, la producción, parámetros de calidad de fruto, parámetros de Nitrógeno: nutriente de gran esencialidad para la planta, y actividades enzimáticas. Todos ellos comparados a los de plantas sin tratar o control.

Asímismo, nuestros objetivos se centran en la aportación de nuevos conocimientos sobre la aplicabilidad de los biorreguladores, que serían la base de los cambios morfológicos y por lo tanto complementarios a las respuestas producidas en plantas de pimiento, conocidas en otras especies vegetales.

INTRODUCCIÓN

2.1.- Generalidades

Iniciamos este apartado con la profunda revisión realizada por Nickell (1986), considerado como uno de los pocos investigadores sobre el uso de los biorreguladores, su historia, aplicabilidad y su futura utilización en la agricultura.

Está establecido y muy bien aceptado que el crecimiento y desarrollo de las plantas esta controlado por productos químicos producidos por la misma planta. La producción de éstos compuestos es, a su vez, bajo control genético. Estos productos son denominados hormonas. Por otra parte y aparentemente los reguladores de crecimiento sintéticos tienen una importancia en el control comercial del cultivo, tanto en agricultura como en horticultura. Esta comprobado que la aplicación exógena de los reguladores de crecimiento sintéticos produce un cambio en el nivel de las hormonas endógenas, así interfieren en modificaciones en el desarrollo y el crecimiento en la dirección y extensión deseadas.

2.2.- Histórico del uso de los biorreguladores

La historia de la regulación del crecimiento de las plantas viene desde muchos años antes del tiempo de cristo, cuando la aplicación de un riego con aceite de oliva a árboles de higo era una práctica muy común en el oriente medio. Se sabe que el calor y el tiempo producen una descomposición del aceite, liberando etileno, que a su vez afecta el desarrollo de los higos. Más tarde, en 1893 en las islas de Azores, un accidente de fuego hizo descubrir a un empleado de invernadero, que el humo interfiere en el proceso de floración en plantas de piña. En los años 20, se reconoció que el humo podía estimular la floración en plantas de piña (utilizado durante los meses fríos de invierno para prevenir la dormancia) además este efecto fue causado por el contenido en gases

insaturados del humo tales como el etileno.

Por los años 30 se demostró que el etileno acelera la floración de piña, y justo después el acetileno fue comercializado en las islas de Hawai para estimular el inicio de la floración. Durante los años 40, se comprobó que las auxinas producen este efecto, y el ácido naftalenacético fue el siguiente producto comercializado y aplicado a las plantas de piña. Como consecuencia, se descubrieron varios otros compuestos activos para este propósito.

Una de las utilidades más antiguas de los reguladores del crecimiento era para iniciar y/o acelerar el enraizamiento. Para ello, probablemente el mejor producto químico y el más común, fue el ácido indolbutírico. Interesantes trabajos y libros fueron publicados en este campo de investigación. A pesar que muchos compuestos han sido efectivos, hay que resaltar que ningún compuesto fue más efectivo que el ácido indolbutírico.

Probablemente una de las utilidades más conocidas en la regulación del crecimiento es la aplicación de la hidrazida maleica en plantas de cebolla y de patata, con el fin de eliminar el "sprouting". Este compuesto tenía una aplicabilidad muy extendida en los años 40 y 50 para inhibir el crecimiento de las malas hierbas en los campos de golf, cementerios etc. Posteriormente, el CCC (Chlormequat, Cycocel) fue otro de los compuestos más utilizados, que se aplicaba en períodos de lluvia o de viento, con el fin de cortar los tallos sin alterar el número de espigas por planta y así evitar pérdidas de cosecha. En este caso no hay incremento de cosecha sino, una prevención de pérdidas.

La abscisión, o separación de órganos, hojas o frutos, tiene un importante impacto tanto sobre la cantidad como la calidad de la cosecha. El primer producto

comercial utilizado para abscisión fue el ácido naftil acético (NAA) en flores de manzanos. Los agentes de abscisión pueden aplicarse a naranjos, olivos y otros árboles para permitir una recolección fácil o bien a mano, máquinas o agitando.

Como se ha expuesto anteriormente, la historia del uso de los reguladores de crecimiento es muy larga, pero ¿porque no se ha oído más sobre su utilización hasta los últimos años? Para ello, existe una serie de explicaciones. En los años 40 fue el descubrimiento en Inglaterra, de los ácidos fenoxiacéticos utilizados como herbicidas. Como consecuencia se estableció una gran industria de herbicidas de mucho éxito ahora. Durante la guerra este uso fue más extendido y muy efectivo, no solamente a nivel biológico sino económico. Debido al éxito financiero por estos compuestos químicos, los trabajos enfocados hacia la regulación del crecimiento de las plantas fueron muy pobres. Así en los años 60 y 70, los científicos se dedicaban a la mejora del uso de herbicidas, y no en la regulación del crecimiento de las plantas. Se estiman los costes relacionados con estas investigaciones más altos que los de herbicidas (Sacher, 1982). Sin embargo no se han descubierto productos efectivos para muchos cultivos, esto conlleva que este campo de investigación sea abierto y que tenga una gran interés por parte de los científicos.

El uso de los biorreguladores necesita una programación a base de una serie de informaciones, primera elegir el cultivo para desarrollar la regulación. Para ello, hay que tener en cuenta muchos factores tales como, el coste general del cultivo, el valor del cultivo por hectárea, la historia del uso de los biorreguladores en este cultivo, un programa de educación al consumidor con el fin de convencerle de la aplicación de los biorreguladores, y finalmente, conocer el objetivo específico del uso para mejorar el cultivo. A continuación cuando el cultivo esta elegido, se debe de desarrollar un conocimiento extensivo sobre la fisiología y la bioquímica del cultivo. Por consiguiente, uno tiene que responder a la siguiente cuestión ¿Como el biorregulador podría

incrementar la calidad del cultivo después del tratamiento, por ejemplo el cambio de algunos procesos metabólicos, el cambio de la fisionomía del cultivo, o bien incrementar la producción per se? A continuación ¿Como se deben de aplicar los biorreguladores, como un spray, directamente al suelo, o mediante el sistema de riego? ¿Para obtener la máxima eficacia cuando se deben de aplicar? Archer et al. (1982) presentaron las complicaciones en la investigación de los reguladores de crecimiento para un cultivo en concreto. En este estudio demostraron la necesidad del conocimiento tanto del ciclo del cultivo como del factor limitante y sus interacciones con el fin de determinar cuando el biorregulador debe de aplicarse, para obtener su máximo efecto o, en algunos casos, para tener un efecto.

¿Qué resultados puede ofrecer la aplicación de los biorreguladores? Teóricamente, la lista incluye generalmente todos los procesos del desarrollo de las plantas. Para nombrar algunos: control del enraizamiento, control de floración, control del cuajado y del desarrollo del fruto, control del sexo, control del tamaño de un órgano o de una planta entera, control de la abscisión (caída de hoja o de fruto), control de senescencia o de maduración, regulación de procesos metabólicos tales como los gametocidas, incrementar la resistencia a varios stresse ambientales (térmico o hídrico y/o de polución del aire), control de la germinación y de dormancia, incrementar la resistencia de las plantas frente a las enfermedades, mantenimiento de la firmeza del fruto en almacenamiento, control del color del fruto y de la composición de partes o de toda la planta, protección contra los herbicidas, y control temporal del cultivo.

A continuación pasamos al estudio de las aplicaciones más corrientes de los biorreguladores. Así en Estados Unidos, el 80% de los cultivos de algodón están tratados con desfoliantes o desicantes que liberan la planta de sus hojas ante de la cosecha. Muchos compuestos son efectivos en este sentido como por ejemplo el Merphos y DEF. Se considera el etefon como un biorregulador que conlleva a la

liberación de etileno por los tejidos de la planta, tiene un efecto muy significativo sobre varios cultivos. Puede disminuir el largo de los tallos de cebada, asimismo obteniendo plantas cortas que permanecen rectas a pesar del viento o de la lluvia, tal como el Clormecuat (CCC) está utilizado en el caso de las plantas de trigo. El etefon tiene un efecto significativo sobre la maduración de plantas de tomate, tabaco, café y de otros cultivos. Puede incluso atrasar la madurez de los frutos de piña y su aplicación tiene muchos efectos beneficiosos sobre la caña de azúcar.

2.3.- Aplicación actual de biorreguladores

Hay que mencionar que la regulación química del crecimiento de una planta por compuestos bajo el nombre de hormonas reguladores, herbicidas... El término biorregulador fue introducido por Maier y Yokoyama (1974). La definición de biorregulador denota sustancias que controlan vías metabólicas o biosintéticas específicas, o pasos, sin ninguna limitación como si estas vías son específicamente esenciales para el crecimiento. Por otra parte, su concepto es que un biorregulador tiene un efecto bioquímico muy específico, que resulta en un efecto morfológico específico. Estos autores apuntaron hacia un efecto del biorregulador sobre el metabolismo secundario para acumulación de pigmentos, sus estudios se basaron sobre plantas citrus.

Dentro de algunos nuevos compuestos, o nuevas aplicaciones de compuestos conocidos en diferentes cultivos, el paclobutrazol es el primero que hay que mencionar. Se clasifica como inhibidor del crecimiento que, una vez aplicado en el suelo alrededor de la base de los árboles de manzanos, controla el crecimiento del tronco durante muchas estaciones con un leve efecto sobre el tamaño del fruto. Sin embargo, en algunas condiciones, la cosecha de los árboles tratados puede incrementar debido a una gran intensidad luminosa que actualmente conlleva a la fructificación rápidamente. La

reducción del crecimiento terminal excesivo de los troncos, hace que la eficiencia de los árboles es consecuentemente más importante. Muchas plantas producen más hojas que las necesarias para una máxima fotosíntesis, y la sombra producida por una o dos hojas puede reducir significativamente la fotosíntesis en éstas hojas a parte de aquellas afectadas (Williams, 1984). El modo de acción del paclobutrazol consiste en la inhibición de la síntesis de giberelinas en un estadio fenológico precoz. Puede aplicarse como spray, inyección al tronco, al suelo, o bien en la solución nutritiva.

Otros biorreguladores que hay que mencionar son el amidocloro (Limit), un inhibidor del crecimiento de las malas hierbas, y el mepicuatol clorido (Pix) que se utiliza para reducir el tamaño de las plantas de algodón, y incrementar la producción. El fenilurea citoquinina (CPPU) que, cuando se aplica a las plantas de uva antes o en la floración, previene la abscisión, y incrementa significativamente el tamaño de los granos de uva (Nickell, 1986). Uno de los nuevos compuestos es el 3-clorobencenil-ester de dicamba, que incrementa la concentración de azúcares en uvas (Nickell, 1986). Su aplicación junto con el CPPU induce a un incremento del tamaño de los granos de uva de mesa y no el nivel de azúcares.

El uso de los biorreguladores en plantas de patata es muy actual, puesto que la mayor parte de cosecha esta encaminada hacia la industria (Kunkel y Thornton, 1980), y además que las altas concentraciones de glucosa y fructosa presentes en los tuberculos, inducen al desarrollo de una color negro durante el procesado de las patatas (Iritani y Weller, 1986), el tratamiento con calor induce a una reacción entre los azúcares reducidos y los aminoácidos y otros compuestos orgánicos, resultando en un oscurecimiento. De hecho estudios recientes mostraron que algunos biorreguladores pueden reducir tanto la concentración de azúcares en los tuberculos como el oscurecimiento durante el procesado, podemos citar el ácido 5-bromosalicílico, el ácido 5-clorosalicílico (Nickell, 1990), aspirina (ácido acetilsalicílico), y sulfanilamida

(Nickell, 1991).

2.4.- Ejemplo de utilización de biorreguladores: Caña de azúcar

Dada la importancia de las plantas de caña de azúcar, en cuanto a su extensión y a su industria, en el mundo entero, las investigaciones adoptaron el uso de los reguladores de crecimiento a este cultivo. Se identificaron varios estadios del ciclo de cultivo de éstas plantas como limitantes para la cosecha o potencialmente como pasos limitantes para la cosecha. Dentro de éstos estadios, se consideraron la germinación, el crecimiento precoz, la floración, el crecimiento lento en invierno, y el excesivo crecimiento vegetativo cercano a la recolección.

Los diferentes usos de los reguladores de crecimiento se presentarán en función de la secuencia de los estadios, a partir de la plantación hasta la cosecha.

Debido a los problemas que surgen, después de la plantación, en la fase de germinación de las plantas de caña de azúcar (condiciones temporales adversas, exceso de humedad y de frío, infección por hongos o/y bacterias), se intenta siempre obtener un buen aspecto de las plantas, para ello, se necesitan una germinación y un crecimiento precoz rápido. Se enfocó la investigación hacia la determinación de los compuestos responsables de germinación o del crecimiento precoz de plantas jóvenes de caña de azúcar, se demostró que el aminoácido arginina causó de manera considerable la estimulación de la germinación. Se comprobó también que este mismo aminoácido causa un incremento en la velocidad del crecimiento de las plantas en estadio tardío, conllevando a una mayor producción tanto de caña como de azúcar. Estudios posteriores mostraron que este efecto es evidente a nivel celular, por ejemplo, células de caña de azúcar crecidas en cultivo en suspensión respondió a la arginina.

Por otra parte se demostró que la aplicación del AG₃ a las plantas de caña de azúcar incrementó de manera significativa la cosecha pero, sin mostrar ningún efecto sobre la calidad de la caña o del jugo. El uso de AG como precursor de floración, podría ser más aplicable en las plantas de caña de azúcar.

Para estas plantas se sabe que el etephon puede ser aplicado para activar la maduración; sin embargo estudios en Hawai y después de varias pruebas, se demostraron que este compuesto y bajo estas condiciones, la calidad de la caña de azúcar se deprimió, este resultado podría indicar que el tratamiento con etephon afectó el crecimiento más bien que la maduración. Esto se confirmó con los resultados de cosecha, que mostraron que un incremento en el peso fresco del tallo después de 10 días de tratamiento.

Se considera el control de la floración uno de los aspectos prácticos más importantes en la agricultura. En muchos cultivos, la clave para el éxito financiero consiste en la capacidad de inducir la floración y, pero tiene más importancia, inducirla según la demanda del mercado mayor. Contrariamente, prevenir la floración es extremadamente importante sobre todo en el caso de cultivos cuya floración causa un descenso en la producción.

Para algunos cultivos, se han establecido productos comerciales para prevenir la floración, como los caña de azúcar por ejemplo. El proceso de floración está extremadamente sensible al medio ambiente. Esto es el caso del inicio de floración y fertilidad y germinación del polen. El primer biorregulador potencial y aplicable fue la hidrazida maleíca. Estudios más recientes demostraron que el etephon es excelente para la supresión de la floración en caña de azúcar.

Se considera la maduración de las plantas uno de los factores más importantes para la producción, este proceso es muy complicado en el caso de las plantas de caña de azúcar, para ello, se estudió el efecto de varios biorreguladores y se demostró que el 2,4-D es el más efectivo en comparación con los resultados obtenidos con tratamientos con la hidrazida maleica, el ácido triodobenzoico, el dalapon, el EDTA y así como con algunas enzimas inhibidoras e inhibidores de metabolismo. La efectividad de un biorregulador está basada en su habilidad de incrementar la calidad de dos parámetros mayoritarios del tallo: la pureza del jugo y el porcentaje de azúcar por peso de caña.

A pesar de que las giberelinas puedan inducir la floración en muchas plantas, su uso comercial conllevó a un incremento en el tamaño de uvas y a un estímulo en el crecimiento de los tallos primarios de las plantas de caña de azúcar (Nickell, 1983).

2.5.- Inhibidores del crecimiento y su utilidad como biorreguladores

A lado de las fitohormonas naturales, hay un grupo de biorreguladores que modifican el crecimiento y el desarrollo de una planta sin inducción de fitotoxicidad o efectos de malformación, estos compuestos son nominados como atrasantes o inhibidores del crecimiento. Cuando están aplicados en una concentración adecuada, estos compuestos influyen la arquitectura de la planta que según Dicks 1980, está caracterizada por varios fenómenos como:

1- Inhibición del crecimiento del tallo (peso, elongación del internódo y de la superficie foliar) a pesar de estos efectos, el numero de internodos no cambia además con una pigmentación intensificada de las hojas.

2- Mantienen ó a veces estimulan ligeramente el crecimiento de las raíces que se caracterizan por ser más largas y más finas. En ambos casos la razón Raíz/Tallo está a favor de la raíz (Kuchenbuch y Jung 1988).

A parte de los cambios morfológicos de los retrasantes del crecimiento, una serie de alteraciones fisiológicas ha sido comprobada y relacionada con una formación óptima de las cosechas de varios cultivos, estos cambios incluyen:

a- Retraso de la senescencia con un contenido incrementado de clorofilas proteínicas y contenido de elementos minerales en el tejido de la planta (Sankhla et al. 1985, Luib et al. 1987).

b- Una estimulación de la traslocación de los asimilados hacía las semillas (Luib et al. 1987).

c- Una floración anticipada y modificación de la expresión sexual (Oshio y Izumi 1986).

d- Reducción del consumo del agua (Asare-Boamah et al. 1986, Carlson et al. 1988, Luerksen 1988).

e- Incremento de la resistencia a condiciones de stress ambiental: Frío, Temperaturas altas, sequía y infecciones de champiñones (Anderson y Huband 1987, Fletcher y Hofstra 1988).

f- Incrementa la absorción de los nutrientes a partir del suelo (Kushenbuch y Jung 1988).

Gracias a las propiedades de estos biorreguladores, se han utilizado con práctica en agricultura así que en horticultura. Hay muchas aplicaciones económicas propuesta por Rademacher 1990.

Existen circunstancias donde la reducción del tamaño de toda la planta tiene un interés económico, por ejemplo la reducción de la elongación del tallo de los cereales

por el CCC. Este biorregulador previene significativamente la probabilidad de una pérdida en la cosecha a causa de lluvias o viento fuertes. Esta técnica es muy común para las plantas de trigo cultivadas en Europa (Nickell, 1994). El efecto de éstos biorreguladores tiene lugar en la zona subapical del tallo, donde la división celular y a menor medida la elongación, están inhibidas. Así los internodos de las plantas tratadas son más cortos puesto que tienen pocas células. Muchos inhibidores del crecimiento actúan inhibiendo un paso específico de la síntesis de las giberelinas, que se considera necesaria para el mantenimiento de la actividad meristemática subapical. Cuando éstos biorreguladores están suministrados, una aplicación de AG₃ con una dosis adecuada, podría revertir el efecto inhibitorio del biorregulador.

2.6.- Reguladores de crecimiento, utilidad como biorreguladores

Salisbury (1994), define los reguladores de crecimiento de la planta, son compuestos que influyen sobre el crecimiento y el desarrollo de una planta de manera similar o idéntica a la de hormonas. Estos agentes que necesitan ser compuestos naturales de la planta y no son necesariamente translocados a nivel de la misma, son nominados reguladores del crecimiento. Este término general incluye las hormonas vegetales reales y incluye también los reguladores de crecimiento sintéticos que actúan mucho como las hormonas.

La industria química agrícola utilizó el término reguladores del crecimiento de la planta refiriéndose exclusivamente a las sustancias como hormonas sintéticas. El término fitohormona tiene como sinónimo hormona vegetal mientras que regulador de crecimiento de la planta era más o menos equivalente a regulador de crecimiento pero más asociado a sustancias naturales. El término sustancias queda sin embargo, ambiguo, y las hormonas influyen más que el crecimiento (Especialmente el desarrollo).

Ideas previas sobre las hormonas vegetales fueron basadas en las definiciones de las hormonas animales desarrolladas al principio de este siglo.

El concepto clave fue la translocación. Pero está claro ahora que varias sustancias no están siempre translocadas pero pueden actuar en la misma célula donde se han sintetizado (Davies, 1987; Trewavas, 1981).

¿Cómo se puede definir una hormona vegetal? ¿Qué factores tienen que ser considerados? En adición a la translocación, hay que tener en cuenta tres importantes factores:

Concentración: Tradicionalmente este es un aspecto importante de la definición de una hormona (la mayoría actúan a nivel de micromolar), pero muchas sustancias actúan también a nivel micromolar.

Modo de acción: Se podría pensar como la mejor base para la definición si solamente se sabía como actúan las hormonas, pero existen generales evidencias que sugieren varios modos de actuación de las hormonas.

Papel en la planta: Este probablemente viene más específico de como una hormona podría ser.

Las hormonas o sustancias del crecimiento se diferencian mucho de las moléculas vegetales (carbohidratos, proteínas de respiración, nutrientes minerales etc.), puesto que se consideran como compuestos sintetizados en la planta y que actúan a nivel micromolar, regulan y son esenciales para varios pasos (desarrollo y crecimiento) en el ciclo de la planta, incluyendo varias respuestas al cambio medioambiental. En algunos y no todos los casos, las hormonas actúan como mensajeros químicos (son transportados a partir del sitio de síntesis al sitio de acción, como es una norma en los animales). Este término no se debería de utilizarse a los nutrientes minerales, ni a los metabolitos primarios (e.j. Sacarosa), ni a los compuestos no sintetizados en plantas pero con efectos

similares en las plantas (muchos reguladores de crecimiento).

2.6.1.- Respuesta de las plantas a las Giberelinas

Las Giberelinas ilícitan a la floración en muchas especies que requieren el frío, tales como rosales crecidas en condiciones non inductivas. El AG causa tanto la floración. Existen tres importantes complicaciones de los efectos de AG en la floración. Primera, el AG particular que esta utilizado puede producir un gran cambio, así las Pinaceas reaccionan con el AG₄₊₇ y no con el AG₃; en manzana. AG₃ tiene un efecto inhibitorio mientras que el de AG₄ es promotor; hay muchos otros ejemplos. Segunda, el efecto de AG puede depender de la asociación con algunos tratamientos tales como el estrés hídrico (Pharis et al., 1986). Tercera, el tiempo de la aplicación del AG es siempre crítico, como mejor ilustración POR ejemplo el AG₃ es promotor cuando se aplica justo antes de una sola noche inductiva y inhibitorio después (King et al., 1987) en plantas de *Pharbitis*, pero esta secuencia es inversa en algunas otras especies (tomate por e.j.). Claramente, la base genética es critica para saber la respuesta de las plantas a el AGs.

Para una mejor distinción, la respuesta de la planta puede ser química y morfológica pero también hay que mencionar que la respuesta química precede siempre a la morfológica.

Respuestas Morfológicas al A.G aplicado: Está claro que todos los aspectos del crecimiento y el desarrollo de las plantas desde la germinación de la semilla hasta la fructificación, puede ser afectado por AGs. A pesar de la diversidad de las respuestas a AGs, todos los aspectos de sus efectos pueden ser discutidos como regulación de la elongación, división celular ó ambos. La aplicación exógena del AG estimula el crecimiento del eje embrionario así que la expansión celular de los cotiledones después

de 4 días de tratamiento (Bradbeer y Coleman 1967, Pinfield 1969).

2.6.2.- Respuesta de las plantas a las citoquininas

Promueve la floración en muchas especies y inhibe la floración en pocas. Generalmente sus efectos son fuertemente relacionados con la presencia de otras hormonas, especialmente el AGs pero también con la del AIA. En algunos casos, se puede demostrar que la sensibilidad del ápice a las citokininas es importante y podría ser influenciada por el medio ambiente. Algunos cambios drásticos en la concentración de la CK relacionados con la floración han sido previamente discutidos. La gran diferencia entre el desarrollo vegetativo y reproductivo se ha demostrado en un incremento en el contenido de CK, AG, AIA y ABA (Miginiac et al., 1987).

2.7.- Biorreguladores y su efecto sobre los nutrientes minerales

En trabajos sobre la nutrición mineral de plantas, la mayoría de los investigadores han enfocado sus experimentos al estudio dinámico de los nutrientes minerales, durante el ciclo vegetativo de la planta (López-Cantarero et al., 1995), estudiando básicamente los contenidos foliares, y ante la aparición de deficiencias intentar corregirlas mediante un suministro exógeno de los nutrientes en cuestión (Embelton et al., 1988; Marschner, 1983).

No obstante se conoce muy poco acerca de los biorreguladores y su influencia sobre el contenido de nutrientes minerales, lo que refleja la escasa bibliografía existente. Podemos mencionar algunos estudios sobre la relación hormonas vegetales y macronutrientes, y raramente se estudian los micronutrientes.

Se conocen evidencias sobre el papel de los reguladores de crecimiento en el comportamiento de determinados nutrientes y viceversa (Mengel y Kirkby, 1982). En un estudio comparado de tres especies vegetales, sometidas a tratamientos hormonales con AG₃, ácido indolacético (AIA) y kinetina, resultó en un acumulo de P y K foliares, no afectando prácticamente a los contenidos de Ca y Mg; esta acumulación puede ser debida a un aumento de la absorción de estos nutrientes desde las raíces y un transporte hacia las zonas aéreas de la planta, tallos y hojas (Shaddad et al., 1989).

Uno de los nutrientes que se ha relacionado con los fitorreguladores con más frecuencia es el Ca, encontrando que las giberelinas concretamente pueden disminuir su transporte desde los tallos a los frutos y, por otra parte las auxinas pueden aumentar su movilidad, y se demostró que las auxinas inducen una liberación de Ca de las membranas (Poovaiah et al., 1987; Evans et al., 1990).

Existen algunos trabajos sobre el efecto de los biorreguladores en citrus donde una aplicación de AG₃ en hojas de naranjos, se obtuvo un incremento en la concentración de Cu y de Mn en las hojas tratadas, si bien las diferencias no fueron significativas (Nasr et al., 1973). Cuando se tratan simultáneamente hojas y ovarios de mandarina "Clementina" con una solución de giberelinas, se produce un incremento relativo en el contenido de N, P, y K en los frutos y una disminución en las hojas adyacentes a estos frutos (García-Martínez y García-Papi, 1979b); se sabe que estas hojas son las principales suministradoras de asimilados en frutos de citrus (Moss et al., 1972), y se ha observado un incremento de la fijación del fruto cuando solo las hojas fueron tratadas (García-Martínez y García-Papi, 1979a). Esto sugiere que el AG₃ incrementa la fijación del fruto por estimulación del transporte de nutrientes a los frutos desde las hojas adyacentes.

Un estudio realizado en dos variedades de pimiento sobre la influencia de los biorreguladores sobre la concentración de macro y micronutrientes mostró que la aplicación exógena de nutrientes, aminoácidos o de kinetina, indujo a un incremento en la concentración de N, P, K y Ca en las hojas tratadas durante el cuajado de fruto, con lo que respecta a los micronutrientes, se encontró que la kinetina conllevó a un incremento muy significativo en B (Csizinszky, 1989).

Por otra parte, se ha comprobado el efecto de algunos inhibidores del crecimiento sobre el contenido de P, así en plantas de cebada tratadas con clormecuat (CCC), mostraron una alteración en la traslocación de P, obteniéndose en hojas y raíces, niveles de P cuatro veces mayores que las plantas control, en forma de fosforilcolina (Cathey, 1964).

Un estudio sobre la influencia de AG; 2,4 D y daminozida sobre la absorción de N, P y K en soja y trigo mostró que la absorción de K por el trigo es acelerada por AG, mientras que el 2,4 D incrementa la del N y del P en ambas plantas soja y trigo (Devlin y Karczmarczyk, 1977). El AG y 2,4 D interfieren con la translocación de estos 3 elementos. El diamozida no afectó la absorción de los 3 minerales pero estimuló la translocación de P y K a nivel de la planta. Estudios en Brazil con plantas de tomate mostraron que aplicaciones foliares de CCC resultaron en altas concentraciones de N, Mg y Ca en los tallos de las plantas tratadas. Un tratamiento similar con dimanozida causó un incremento en la concentración de N en los tallos.

Estudios en Rusia (Gruzdev, 1979) sobre el trigo de invierno en el cultivo, mostraron que el CCC decrece la concentración de N y atrasa la acumulación de proteínas; por otra parte, aplicación con spray con una combinación de CCC y de sales aminas de 2,4 D incrementa la concentración de N y estimula la acumulación de proteínas. Estudios con "Okra" en India (Shukla y Tewari, 1974) mostraron que la

aplicación foliar de CCC o de daminozida reduce la acumulación tanto del N como del P en frutos. Las plantas de tomate tratadas con CCC tienen un contenido mayor de N, Ca y Mg que las plantas no tratadas (Knavel, 1969; Castro y Malavolta E 1977), aquellas tratadas con daminozida tienen una concentración mayor sólo de N (Castro y Malavolta, 1977).

Debido a la diversidad en la composición de los biorreguladores, cada vez se descubre un nuevo compuesto o bien una mezcla de biorreguladores previamente conocidos, así se ha demostrado que la mezcla AG₃ + ácido indolbutírico + agente de fermentación, es muy efectiva para los cultivos de algodón crecidos bajo condiciones de estrés hídrico. Este conjunto de biorreguladores produjo un incremento en la absorción de nutrientes en la primera semana después del trasplante, así se obtuvo un 100% de incremento en el nivel de micronutrientes Zn, Cu, Mn y Fe, en la fotosíntesis y en el peso seco de las raíces. Por lo tanto, se comprobó que este biorregulador (denominado PGR IV) puede aliviar los efectos negativos del estrés hídrico sobre la fotosíntesis y acumulo de peso seco, mejorando el crecimiento y la absorción de nutrientes (Zhao y Oosterhuis, 1994).

2.8.- Efecto de los biorreguladores sobre la composición de la planta

El color de los cítricos tiene una gran importancia económica. El más deseado por el consumidor, es esencialmente debido a la presencia de pigmentos, especialmente los carotenoides. Sin embargo un gran porcentaje de cosechas de naranjas no posee este color, por ello el descubrimiento del 2-(4-clorofenilthio) trietilamina hidrócloride (CPTA), fue un paso importante para la mejora del color de las naranjas, así la aplicación del CPTA resulta en un incremento en la concentración de carotenoides y licopenos, particularmente en los frutos de cítricos (Coggins et al., 1970). El resultado

fue muy interesante aunque previos investigadores encontraron que la aplicación del clormecuat (CCC) conllevó a un acumulo de licopeno en los cotiledones de calabaza (Knypl, 1969), esta respuesta no se obtuvo en los frutos de citrus (Coggins et al., 1970). El color definitivo de la mayoría de las variedades de naranjas esta producido gracias a la disminución del contenido en pigmentos clorofilicos y a un acumulo de los carotenoides (Coggins y Jones, 1977). En este apartado se puede mencionar otros biorreguladores, el AG induce un descenso sustancial en la acumulación de carotenoides y retarda la degradación de clorofilas de forma significativa, el 2,4-D y la benciladenina no tiene ningún efecto sobre los carotenoides.

Con lo que respecta el color de otros frutos o hortalizas, se demostró que el etephon incrementa el color rojo de tomate (Buescher, 1977; Beuscher y Doherty, 1978), de pimiento bell (Worku y Harner, 1971; Locascio y Smith, 1977), de pimiento chili (Nakayama y Matta, 1973), y de pimiento pepper (Lockwood y Vines, 1972), de arándaros (Bramlage et al., 1972; Shawa, 1979), así como de muchas variedades de manzana (Gorini y Mariotti, 1973), y por otra parte se ha comprobado que el daminozida es muy efectivo para incrementar el color rojo de las cerezas (Drake et al., 1980).

2.9.- Efecto de los nutrientes sobre los reguladores del crecimiento

Respecto al papel de los nutrientes sobre las hormonas vegetales, se ha comprobado que el aporte de distintos nutrientes minerales pueden afectar a las concentraciones de citoquininas en algunas especies (Horgan y Wareing, 1980), encontrando una correlación entre el suplemento de nitrógeno, las citoquininas y la senescencia de la hoja.

Hay algunas indicaciones que hacen participar al Zn como elemento esencial para la síntesis de AIA y otras auxinas, aunque no se sabe con certeza el mecanismo de acción (Sinclair, 1984); se ha sugerido (López y Chueca, 1985) que el Zn previene la oxidación del AIA por los sistemas de peroxidasas, o bien que tiene una participación directa en la síntesis de triptófano, el inmediato precursor auxínico.

Al contrario, el Mn puede provocar una disminución del AIA como consecuencia en la actividad de indolacético oxidasa, sin embargo se necesita un estudio más avanzado sobre la interacción entre Mn, Zn y las auxinas (López y Chueca, 1985).

El papel de la nutrición nitrogenada sobre la actividad citoquinina se ha puesto de manifiesto en un estudio con cereales, donde plantulas crecidas con amonio como única fuente de N contenían una actividad de citoquinina superior a aquellas crecidas con nitratos, indicando un efecto de N, y su forma sobre la síntesis de citoquininas (Golvano y Vizarova, 1984).

Lo que si se conoce con más profundidad es el papel de Ca como factor principal para prevenir los desórdenes fisiológicos en frutos y otros tejidos vegetales durante el crecimiento y el desarrollo, y su papel como retardador de la senescencia mediante una reducción de la respiración y una supresión en la producción de etileno cuando se aplica externamente soluciones de Ca (Lieberman y Wang, 1982; Poovaiah y Leopold, 1973).

2.10.- Papel fisiológico de las hormonas sobre las plantas

Para que una hormona sea activa en una célula tiene que ser reconocida por esa célula, por tanto, tiene que unirse a un punto específico de esa célula. Un órgano o una célula sin tales puntos específicos de unión no puede percibir la presencia de una

hormona particular y no responderá a ella: un gran número de puntos de unión accesibles para una hormona dará a un órgano o a una célula elevada sensibilidad para esa hormona (Chadwick y Garrod, 1986). La naturaleza de los puntos de unión de fitohormonas se cree que es de tipo proteínico (Bruinsma, 1985).

Aunque el efecto de las hormonas sobre la expansión o división celular depende del estado de desarrollo de la célula, se ha podido observar, de forma general, que tanto auxinas como giberelinas son capaces de estimular la elongación celular, mientras que el ABA o algunos inhibidores de crecimiento y etileno la retrasan. Las citokininas pueden actuar como aceleradores de la expansión celular de hojas pero inhiben la elongación en tallos vegetativos (Evans, 1984).

Se ha observado que para una hormona pueda ejercer su función fisiológica es necesario que interaccione con moléculas específicas de las células vegetales denominadas receptores (Chadwick y Garrod, 1986); se ha comprobado la existencia de estos receptores para las cinco hormonas conocidas, donde se han podido aislar determinadas proteínas y RNA mensajeros.

2.10.1.- Papel fisiológico de las giberelinas

Se conoce una multitud de respuestas que las giberelinas pueden producir cuando se aplican a plantas, sin embargo no se conocen los modos en que actúan sobre el crecimiento en su totalidad exactamente, aunque existe gran cantidad de evidencias al respecto, como son la de estimular el crecimiento de órganos vegetativos, regular el metabolismo de almidón en cereales, participar en la iniciación, diferenciación y desarrollo floral y crecimiento del fruto, entre otras (Jones y MacMillan, 1984; Pharis y King, 1985). Además las giberelinas son las únicas entre todas las hormonas vegetales, que poseen la capacidad de estimular el crecimiento en la mayoría de las

plantas intactas, siendo su efecto fisiológico más prominente la elongación del tallo (MacMillan, 1974). Esta respuesta se ha observado claramente cuando se aplican exógenamente giberelinas a plantas jóvenes, donde el efecto de promoción de crecimiento se debe principalmente a la elongación celular y parcialmente a la división celular.

Se ha observado que los tratamientos con giberelinas pueden incrementar el crecimiento de las plantas afectando bien a la expansión celular o bien a la división celular o ambas. En el proceso de división celular se ha comprobado que las giberelinas incrementan el tamaño de la zona meristemática y la proporción de células que están sufriendo división (Jones y MacMillan, 1984). Se ha observado que las giberelinas reducen la duración del ciclo celular cerca del 30%, esta reducción tiene lugar principalmente a nivel de la fase G₁ con un 30% y a nivel de la fase S con un 36% de reducción (Liu y Loy, 1976).

Para poder profundizar el estudio de la fisiología de las giberelinas y su papel en cada uno de los procesos fisiológicos y bioquímicos que tienen lugar en las plantas superiores, y sobre todo en lo que respecta a la fisiología del fruto desde la fase de floración hasta completa maduración, cada vez vienen realizando con más frecuencia tratamientos exógenos de giberelinas y así observar los cambios a nivel del fruto (Ben-Tal, 1990).

Así se ha observado que la aplicación exógena de giberelinas inhibe generalmente la floración de una amplia variedad de plantas angiospermas, sobre todo en lo que respecta los árboles frutales (Goldschmidt y Monselise, 1972; Pharis y King, 1985), por lo tanto algunos autores recomiendan que los tratamientos con giberelinas deben aplicarse una vez que se han completado los ciclos florales de inducción y diferenciación, para evitar esta supresión floral (Guardiola et al., 1982; Nickell, 1982).

Por otra parte existe una considerable bibliografía que relaciona los efectos del AG₃ exógeno, que es el más ampliamente aplicado, sobre los procesos de senescencia (Aharoni y Richmond, 1978; Pharis y King, 1985; Sacher, 1973). En estos trabajos se ha comprobado que la aplicación de AG₃ retrasa la pérdida de clorofila en hojas así como en frutos y tallos vegetativos, previos estudios mostraron la existencia de una relación entre el contenido de AG₃ en hojas y el inicio de senescencia en plantas de *Tropaeolum majus* (Beevers, 1966), y por otra parte la adición de AG₃ en solución a plantas de *Alstromeria*, retarda el amarilleo de hojas (Hicklenton, 1991). Se ha observado también que las giberelinas pueden inhibir la degradación de RNA y proteínas, que tienen un papel importante en el proceso de maduración y senescencia de frutos (Nooden, 1988b). Sin embargo, en la mayoría de las especies vegetales, el AG₃ no retarda la senescencia de hoja, y su concentración en los tejidos no fue correlacionada con la senescencia (Halevy, 1986). En un estudio actual de Han (1995), la aplicación de AG₃ a concentraciones crecientes, conllevó a un incremento tanto de clorofilas como de longevidad de hojas y un tratamiento repetitivo atrasa la clorosis foliar pero con un leve descenso en la longevidad foliar de plantas de *Lilium longifolium*. Esta aplicación es de gran interés durante la postproducción y el almacenaje de las flores con el fin de evitar posibles pérdidas económicas. Se sugirió que el desarrollo de la clorosis foliar en *Lilium* durante la postproducción podría ser asociado al estado de carbohidratos en hojas (Han, 1995; Jiao, et al., 1986; Miller et al., 1993).

Se ha demostrado que en los tejidos que muestran una disminución en la actividad de giberelina como consecuencia de su estado de desarrollo, un tratamiento exógeno con AG₃ retrasa la senescencia, lo que corrobora y pone de manifiesto que las giberelinas juegan un papel importante en la senescencia; además las giberelinas exógenas parecen ser más efectivas cuando las giberelinas endógenas están más bajas (Nooden, 1988b).

2.10.2.- Papel Fisiológico de las Citoquininas

Se sabe que las citoquininas juegan un papel importante en todas las fases de desarrollo de la planta, desde la división celular y alargamiento celular en cultivos de tejidos, hasta la formación de flores y frutos. Las citoquininas afectan al metabolismo general de la planta, incluyendo las actividades de determinadas enzimas, biosíntesis de factores de crecimiento, así como influyen en la aparición de orgánulos celulares y el flujo de asimilados y nutrientes a través de la planta (Skoog y Armstrong, 1970).

Uno de los efectos más destacados de la aplicación exógena de citoquininas es su capacidad de retrasar la desaparición de clorofila y la degradación proteica que generalmente acompaña a los procesos de senescencia de hojas y frutos (Van Staden et al., 1988). La aplicación de citoquininas en hojas viejas, puede revertir el efecto de la clorosis, resultando en hojas verdes con una reorganización del grana en los cloroplastos (Leshem, 1986; Thimann, 1987).

Se ha comprobado que las citoquininas sintéticas son más efectivas que las naturales, debido a su mayor estabilidad una vez absorbidas por la planta. Parece ser que las citoquininas exógenas pueden corregir una posible deficiencia de citoquininas endógenas que pudiera darse lugar en determinados estados fisiológicos de la planta, tales como antes o durante la senescencia (Nooden y Leopold, 1988). Existen estudios sobre el papel de las citoquininas exclusivamente a nivel de hojas y se conoce poco sobre otros órganos como flores, frutos pero se han realizado experimentos sobre citoquininas y su papel en la maduración de éstos órganos (McGlasson et al., 1978).

En relación con los efectos retardadores de la senescencia, se ha observado que los tratamientos con kinetina a hojas separadas, provocan un rápido incremento en la cantidad de RNA y en algunos casos un incremento en los contenidos de DNA y

proteínas totales (Jacobs, 1979a). Existe una gran concordancia de que las citoquininas mantienen los niveles de proteínas durante la senescencia mediante una reducción en la velocidad de degradación más que por aumento de la síntesis (Sacher, 1973) disminuyendo la actividad proteasa en general (Sacher, 1983).

Generalmente los frutos y las semillas son objeto muy utilizado en los estudios del papel de citoquininas en la maduración de estos órganos. Estas estructuras contienen niveles mayores de citoquininas cuyos niveles descienden con la maduración (Hopping et al., 1979; Sandstedt, 1974). En frutos, la pérdida de clorofila y la conversión de cloroplastos a cromoplastos está frecuentemente acompañada por una disminución en el contenido de citoquininas, por lo tanto una aplicación exógena de kinetina podría prevenir la diferenciación de cloroplastos y cromoplastos (Van Staden et al., 1988).

Se ha estudiado que las citoquininas son capaces de influir tanto en las hormonas promotoras de senescencia como inhibidoras y viceversa (Nooden y Leopold, 1988). Así muchos ejemplos muestran que las citoquininas pueden contrarrestar los efectos promotores de la senescencia del ABA, y otros resultados muestran que las citoquininas pueden afectar los niveles endógenos de ABA, unas veces de forma competitiva y otras no (Nooden, 1988b; Parra y Pina, 1988).

Debido a los efectos fisiológicos de las citoquininas, su aplicación exógena se utiliza cada vez con más frecuencia en hortalizas y árboles frutales, cuyas repercusiones económicas son de gran relevancia, pueden estimular el crecimiento vegetativo de las hojas en manzanos pero producen una cierta disminución en el crecimiento de tallos tras un tratamiento con Benciladenina (Green y Autio, 1990).

El problema principal de las citoquininas es que no se conoce con exactitud su mecanismo de acción una vez han sido absorbidas por las hojas o raíces, asimismo, la

existencia de muchos tipos de citoquininas tiene aún muchas cuestiones sin resolver acerca de sus funciones (Horgan, 1984). Los proyectos futuros se enfocan en la conservación de la actividad de las citoquininas con el fin de ampliar la longevidad de órganos vegetales recolectados, como son los frutos (Van Staden et al., 1988).

2.11.- Papel de los biorreguladores en la aliviación del estres

La germinación y el crecimiento precoz de las semillas es un factor importante para el establecimiento de una cosecha, y estos estadios son generalmente sensibles a las condiciones de stress. Para evaluar los efectos de depresión en una cosecha, muchos investigadores ha podido revelarlos gracias a los tratamientos de las semillas con las hormonas sintéticas o biorreguladores. Las semillas de trigo sumergidas en una solución de AIA incrementó la germinación y mejoró el enraizamiento así como el tamaño de la raíz bajo condiciones de estres salino (Chippa y Lal, 1978). Paralelamente a mejora de la germinación, tratamientos con AIA o AG₃ también incrementó la cosecha de trigo y la absorción de nutrientes (Balki y Padole, 1982). Un tratamiento foliar semanal con spray desde un mes después de la siembra hasta la maduración incrementó de manera significativa (50%) el peso seco del brote y un 31% en la cosecha de grano de las plantas crecidas bajo stress salino (Sarin y Rao, 1961). De forma similar, el tratamiento por spray con AIA o 2,4 D en plantas de trigo exhibió significativamente un efecto favorable sobre el crecimiento de trigo cuando el stress hídrico coincidió con la formación apical, floración, o en el estadio de "leche". (Darra et al., 1973) también observaron en semillas de trigo sumergidas en soluciones de AIA mejoró la emergencia y el crecimiento de las semillas bajo un stress salino. Cuando las semillas de *Z. mays* están sumergidas en soluciones de AIA y en varias concentraciones de salinidad, mostraron un incremento de peso seco y cosecha de grano, así como en la absorción de N, P, K, Ca y Mg pero un descenso en Na (Darra y Saxena, 1973).

En una experiencia de Salama et al. (1981), observaron que, en plantas de tomate de 8 semanas de edad, la aplicación con spray de AIA revertió los efectos de depresión sobre el crecimiento producidos por la salinización. En la misma experiencia, sin embargo, la aplicación de AIA no pudo contrarrestar la reducción del crecimiento en plantas de *Eruca sativa*. Abdel-Rehman y Abdel-Hadi (1984) mostraron que un tratamiento con AIA a plantas de *Vigna radiata*, crecidas bajo condiciones de etres salino, conllevó a un incremento en el contenido foliar de agua, la composición de pigmentos y la concentración de K.

Como se mencionó anteriormente, los biorreguladores presentan un gran abanico de aplicabilidad, en cuanto a sus papeles en la resistencia de las plantas al estres salino, y se han estudiado algunas interacciones entre los reguladores de crecimiento y los nutrientes minerales. Se ha comprobado que en condiciones de salinidad, se produce un desequilibrio hormonal en las plantas y que puede ser un factor limitante para el crecimiento, esto podría corregirse con una aplicación exógena de citoquininas y giberelinas o bien con un incremento en la concentración de nutrientes (Amzallag et al., 1992), puesto que se demostró que la reducción del crecimiento de las plantas expuestas a la salinidad, se debe a una limitación de la capacidad de las plantas para ajustar los desequilibrios nutricionales que afectan las funciones metabólicas y el balance hormonal (Kuiper et al., 1989). Se demostró previamente que una aplicación de citoquininas, resulta efectiva para aliviar la deficiencia de nutrientes (Kuiper, 1988).

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.- Características del cultivo.

Las plantas crecieron en un invernadero de los llamados tipo "Parral". Estos invernaderos se construyen a base de rollizos de madera con los pies derechos y alambre galvanizado en las cubiertas. La anchura del invernadero fue de 20 m y con una superficie de 2000 m², cubierto de polietileno térmico de 800 galgas. El invernadero presentaba un sistema de fertirrigación localizado, con goteros de largo recorrido "interlineal" y un caudal de 4 L/h. Este tipo de invernadero y con estas características es el más abundante en la provincia de Almería, cuando se realizó el experimento. El invernadero presentaba una orientación Este-Oeste.

3.1.1.- Especie estudiada.

3.1.1.1.- Generalidades.

El pimiento es una planta cuyo origen botánico cabe centrarlo en la zona meridional del continente Americano, concretamente en el área Perú-Bolivia, desde donde se expandió al resto de America Central y Meridional. Fue Cristobal Colón quien lo introdujo en Europa y bautizó con el nombre de pimiento. En el siglo XVI llegó a Asia (India) a través de Portugal. En la actualidad su cultivo está extendido por todo el mundo y alcanza gran popularidad en los países ribereños del Mediterráneo.

El color del fruto se debe a la capsorrubina y capsantina, poliacetonas combinadas con los ácidos mirístico, palmítico, poléico, esteárico y carnaútico; el sabor picante se lo da la capsaicina (vanililamida del metilnonímico) localizada preferentemente en las placentas del fruto.

Algunas variedades de pimientos se utilizan como ornamentales por el atractivo que muestran sus pequeños frutos; sin embargo, su principal aprovechamiento es la

alimentación humana como hortaliza de acompañamiento debido a su riqueza en vitaminas (principalmente el ácido ascórbico 128-370 mg/100 g de fruto comestible) o como condimento (Pimiento picante y Paprika dulce) y colorante por sus carotenoides diversos como capsantina, caroteno y ésteres de zeaxantina. Ya en los lugares de origen constituía un elemento básico en la alimentación de los aborígenes americanos y sus usos culinarios eran diferentes en función de las variedades de que se tratase, algunas de las cuales eran de uso exclusivo para las clases altas. Los Mayas de Guatemala utilizaban el pimiento como planta medicinal contra los calambres y las diarreas; en la actualidad se utiliza como digestivo y diurético.

3.1.1.2.- Encuadramiento taxonómico y descripción botánica.

El pimiento es una planta con una complicada taxonomía botánica con, fruto de una variabilidad genética apreciable, origen de una gama amplísima de formas.

El pimiento pertenece a la familia *Solanaceae*, y su nombre botánico más generalizado es el de *Capsicum annuum* L.

Algunos autores como Bailey (1977), sólo reconocen una especie (*C. annuum*), que engloba toda la variabilidad genética existente.

Otros autores, como Purseglove (1974), distinguen dos especies: *Capsicum annuum* L. y *Capsicum frutescens* L., que difieren fundamentalmente en el número y color de las flores por inflorescencia; forma de los frutos; ciclo vegetativo, etc. Dentro de *C. annuum* L. este mismo autor llega a incluir siete variedades botánicas, en función principalmente de la forma y tamaño de los frutos: var. *abbreviatum* Fingerh, var. *acuminatum* Fingerh, var. *cerasiforme* (Miller) Irish, var. *conoides* (Miller), Irish, var. *fasciculatum* (Styrt) Irish, var. *grossum* L. Sendt y var. *longum* (DC) Sendt, mientras que en *C. frutescens* L. distingue la variedad *baccatum*, plurianual y de aspecto arbustivo.

El mismo Purseglove (1974) indica como taxones cultivados de pimiento reconocidos actualmente:

- *C. annuum* L. var. *annuum*: a esta unidad pertenecen la mayor parte de los cultivares existentes. Corolas de color blanquecino. Flores normalmente solitarias.
- *C. baccatum* L. var. *pendulum* (Wild) Eshbaugh: corolas de color blanco, con zonas amarillentas asalmonadas en el interior, anteras amarillentas.
- *C. chinense* Jacq: con 3-5 flores por nudo.
- *C. pubescens* Rucz-Pav.: con hojas y tallos recubiertos de vellosidades y corola con coloraciones purpúreas.

Ya se ha indicado que la mayor parte de las variedades cultivadas pertenecen a *Capsicum annuum* L., cuyas características botánicas son las que vamos a describir a continuación.

Planta herbácea anual. Sistema radicular pivotante y profundo que puede llegar hasta 70-130 cm según el tipo de suelo, reforzado de numerosas raíces adventicias. Sus tallos son de crecimiento limitado y erectos con una ligera lignificación cuando la planta adquiere una cierta edad, su porte medio puede oscilar entre 1 y 2 m en invernadero. Las hojas son lampiñas, enteras, ovales o lanceoladas con un ápice muy agudo, dispuestas en el tallo de forma alterna, el tamaño de la hoja adulta tiene correlación con el peso del fruto.

Las flores poseen la corola blanquecina, aparecen solitarias en cada nudo y son de inserción aparentemente axilar. Su fecundación es claramente autógama, no superando un porcentaje de alogamia del 10%.

El fruto es una baya semicartilaginosa y deprimida, de color rojo o amarillo cuando está maduro que se puede insertar pendular o enhistamente, de forma y tamaño

muy variable. En este último sentido puede decirse que existen variedades que dan frutos de 1 ó 2 g, frente a otras que pueden formar bayas de más de 300 g.

Las semillas, redondeadas y ligeramente reniformes, suelen tener 3-5 mm de longitud, se insertan sobre una placenta cónica de disposición central, y son de un color amarillo pálido. En 1 g pueden contenerse entre 150 y 200 semillas y su poder de germinación dura de 3 a 4 años.

3.1.1.3.- Expansión del Cultivo de pimiento

Según los datos de la FAO (1980 y 1986), mencionados por GIL (1991), la superficie dedicada al cultivo de pimiento en el mundo es de $1.041 \text{ Ha} \times 10^3$ y la producción, de $8.552 \text{ T} \times 10^3$, actualmente los principales productores por continentes y en orden decreciente son:

Asia, con China, Turquía e Indonesia como principales productores.

Europa, cuyo principal productor es España, seguido de Italia y Yugoslavia.

Africa, con Nigeria, Egipto y Túnez.

América, con Mexico y Estados Unidos.

Concretamente en España, este cultivo es uno de los más importantes, tanto en superficie como en producción y transformación (en torno a las $700 \times 10^3 \text{ Tm/año}$ durante la década 1980-1990). De acuerdo con los datos del Ministerio de Agricultura (1970-1985) mencionados por GIL (1991), la superficie y la producción de pimiento (Exepto el Pimentón) se han incrementado en el periodo 1970-85 en un 9 y un 71% respectivamente. Este extraordinario incremento de los rendimientos se ha debido:

- Al desarrollo del cultivo en invernadero, particularmente en Andalucía, Canarias y Murcia, que provoca un gran aumento en las producciones.
- Al incremento de la superficie cultivada de Aragón, Galicia y País Valenciano.

Hay que destacar que en el año 1986, las principales regiones productoras de más a menos son Andalucía, Murcia, Castilla la Mancha, País Valenciano y Aragón. Según el M.A. y en el caso de la región de Andalucía: la producción en pimiento dulce se incremento de 43.6 a 258 T x 10³ de 1970 a 1985 respectivamente.

El cultivo de pimiento en Andalucía es uno de los que tiene mayor importancia económica, según datos de la BME, Eurostat y Mercasa, aproximadamente 50,7% de la producción total del país, proviene de cultivo bajo plástico de esta zona, fundamentalmente Almería que representa aproximadamente el 28% de la superficie total cultivada (suponiendo un índice en la intensidad de cultivo de 1.8). En segundo lugar viene Murcia con un 15.4% respecto a la producción total y finalmente, la comunidad Valenciana con un 6.5%.

3.2.- Características de las parcelas.

El invernadero contenía 36 parcelas, que correspondían a los 8 tratamientos de biorreguladores y un tratamiento control, todos con sus 4 respectivas repeticiones. Las parcelas no presentaban problemas de encharcamiento ni de arrastre de nutrientes. Cada parcela estaba individualizada y la superficie de cada una de ellas era de 14 m², con un marco de plantación de 21 plantas por parcela. El suelo de estas parcelas presentaban textura y tipología homogéneas.

3.2.1.- Tratamientos o parcelas.

El cultivo fue sometido a distintos tratamientos de biorreguladores comerciales aplicados a las plantas como spray con dosis y tiempo de aplicación bien determinados así, como recomienda la manufactura de estos productos, la tabla 1, representa los nombres comerciales, composición, dosis y tiempo de aplicación de los distintos biorreguladores.

El cultivo fue suplementado con una fertilización homogénea de N, K y de P. El N fue aplicado en forma de NH_4NO_3 y KNO_3 (15 g/m^2), el P se aplicó como H_3PO_4 (8 g/m^2) y se suministró el K en forma de KNO_3 (28.8 g/m^2). La fertilización con macronutrientes fue complementada con una concentración (expresada en p.p.m.) en el agua de riego de los siguientes micronutrientes: Fe aplicado como EDDHA (5); Mn (2); Zn (1); B (0.5); Cu (0.25) y Mo (0.05): El pH final fue de 5-6. El B como H_3BO_3 y los restantes micronutrientes como sulfatos.

Con objeto de simplificar la nominación de los biorreguladores, atribuimos a cada tratamiento un número, asimismo tenemos 8 tratamientos y un control, representados en la tabla 1.

Tabla 1.- Composición y tiempo de aplicación de los tratamientos de biorreguladores

Tratamientos	Dosis	Tiempo(s) de aplicación
T ₀	-	-
T1= Cloruro de Clormecuat Fitorregulador	(CCC) 40-46%	En la primera floración
T2= Fosfonutrem Bioactivador de síntesis	Aminoácidos y micronutrientes (46.9 %, p/v)	Antes de la floración con un intervalo de 15 a 20 días.
T3= Siapton Bionutriente	Aminoácidos y materia orgánica (10%)	Inicio de floración y después del cuajado.
T4= Biozyme Fitohormónas	AG + IAA + Zeatina y micronutrientes (1.86%)	Inicio de floración
T5= ANA Fitorregulador	Ácido naftalenacético (0.43%)	Desde la floración hasta la abscisión de pétalos
T6= Ergostim Bioestimulante	N-acetilazolidin 4- ácido carboxílico (5%)	Antes y después de la floración
T7= Toliftalam Fitorregulador	Ácido naftil metil toluitalámico (20%)	En la plena floración
T8= Acido Giberelico Fitorregulador	Ácido giberelico AG ₃ (9%)	En flores abiertas

En el empleo de cualquier tipo de producto que incida sobre los procesos fisiológicos y biológicos del vegetal sobre el que se aplica tales como los fitorreguladores, hay que tener en cuenta que:

- Los resultados obtenidos en una determinada especie (o mejor variedades cultivadas) no son extrapolables a otra.

- La aplicación de un mismo producto o a una misma planta en estados fenológicos diferentes induce generalmente, efectos distintos.

- Aumentos en las dosis recomendadas, en la mayoría de los casos resultan fitotóxicos. Muchos de ellos se utilizan como herbicidas.

- Es muy recomendable, en especial en aquellos que inciden en el cuajado de la cosecha, tener en cuenta que no aportan elementos nutritivos, que los cultivos tratados deben ser sometidos a un racional abonado de fondo y foliar. Lo anterior también es de aplicación a algunos bioestimulantes y activadores del crecimiento.

3.3.- Parámetros ambientales

Se midieron las temperaturas máxima, mínima y media, aérea y radicular, a lo largo del ciclo de cultivo, así como los valores de la humedad relativa e intensidad luminosa en el interior y exterior del invernadero. Debe tenerse muy presente que los valores representados corresponden a la media quincenal y que algunos valores coinciden con los muestreos foliares. Hemos representado los datos de los diferentes parámetros ecológicos desde el inicio de la plantación hasta la recolección de los frutos finales, ya que inciden sobre la marcha del cultivo. Por otra parte se determinaron los principales parámetros tanto de suelo como del agua de riego utilizada para el cultivo.

3.4.- Análisis de la planta

Se recogieron 8 muestras de hojas con una periodicidad quincenal, y 5 de fruto, ambos órganos recolectaron a partir de sus estadios juveniles hasta maduración y fin de ciclo biológico. Se empezó el cultivo en Septiembre de 1991, su duración fue de 210 días. Los

bioreguladores se aplicaron 3 veces en el 15 de enero, Febrero y Marzo del mismo año, fechas que corresponden al inicio de floración y su desarrollo.

Esquema de trabajo de las determinaciones realizadas con el material vegetal.

MUESTRA DE HOJA

Muestras: 8, Repeticiones: 4

Submuestra de materia fresco	Submuestra de material seco
Actividad Nitrato Reductasa "in vivo"	N orgánico
Actividad ANR endógena	N asimilado
Actividad ANR inducida con NO_3^-	N total
Actividad ANR infiltrada con Mo	NO_3^- , NH_4^+ y N mineral
Actividad Nitrato Reductasa "in vitro"	
Actividad Nitrito Reductasa "in vitro"	
Aminoácidos y Proteínas solubles	

MUESTRA DE FRUTO

Muestras: 5, Repeticiones: 3

Material Fresco	Material Seco
Producción: Comercial, de estrío y Total como Kg/ Ha y N° de frutos/ Ha	Hidratos de carbono
	- Glucosa
	- Fructosa
	- Sacarosa
	- Almidón
Parámetros de calidad	
- pH, CSS, Firmeza, Acido ascórbico	
Acido cítrico, Peso fresco	
- Pigmentos: Clorofilas a y b	
Carotenos	
Licopenos	

3.5.- Plantas.

Un resumen del esquema general desarrollado en este apartado queda reflejado en la tabla anterior

3.5.1.- Toma de muestras vegetales y su preparación.

Cada repetición constaba de 14 plantas que fueron muestreadas en su totalidad, así como todas las repeticiones, recolectando 2 hojas por planta (Sánchez, 1987), las hojas que constituyeron las muestras fueron tomadas de la parte central del tallo, pues éstas presentan un crecimiento que se considera de vigor medio y de una edad fisiológica que corresponde al modelo de madurez de la planta entera (Guzmán, 1987), se despreció el peciolo, se introdujeron en bolsas de plástico perforadas y convenientemente rotuladas con objeto de identificarlas bien en el laboratorio y fueron transportadas en condiciones de frío. La recolección de los limbos foliares se realizó con una periodicidad quincenal durante su ciclo biológico hasta la aparición de la sintomatología típica de la senescencia en plantas.

Siguiendo las indicaciones de Chapman y Pratt (1979), fueron rechazadas aquellas hojas que presentaban un tamaño anormalmente grande o pequeño, las que presentaban lesiones de origen mecánico o provocadas por plagas, así como las que presentaban síntomas visuales de deficiencia, salvo que éstos representasen el estado medio de la repetición.

3.5.2.- Preparación de las muestras de hoja para material fresco.

Las hojas muestreadas fueron sometidas a un proceso de descontaminación (Wolf, 1982), se hicieron dos submuestras, una de ellas se introdujo en un congelador (-20 °C) y con las otras submuestras se siguió el procedimiento descrito más adelante.

3.5.2.1.- Material vegetal fresco.

3.5.2.1.1.- Proteínas solubles.

Se pesaron 0.5 g de material vegetal fresco y se maceraron en 5 ml de tampón fosfato 50 mM (pH 7). El extracto así obtenido se filtró y centrifugó a 12000 g durante 15'. Se pipetearon 0.2 ml del sobrenadante, para añadirle a continuación 10 ml del colorante Azul de Coomasie. Se agitó por inversión del tubo y pasado un tiempo, entre 5 y 60', se realizó la lectura a 595 nm. Igual procedimiento se siguió con la curva patrón de albúmina bovina. El resultado se expresó en mg/g peso fresco (Bradford, 1976).

3.5.2.1.2.- Aminoácidos solubles.

La metodología seguida fue la propuesta por Moore y Stein (1954). Del extracto anterior se tomaron 0.5 ml y se le añadieron 1.5 ml de reactivo de Ninhidrina. Dicha mezcla se introdujo en un baño de agua a 100 °C durante 20'. Seguidamente se adicionaron 8 ml de propanol al 50% y a los 10' se procedió a su lectura a 570 nm frente a una curva patrón de glicocola-ninhidrina. Los resultados obtenidos se expresaron en mg de glicocola/g de peso fresco.

3.5.2.1.3.- Actividades enzimáticas.

3.5.2.1.3.1.- Nitrato-reductasa.

La actividad de las diferentes formas de la nitrato-reductasa determinada se realizaron por el método de Harper y Hageman (1972) y modificado por Valenzuela (1990), con pequeños cambios debido al material vegetal utilizado.

3.5.2.1.3.1.1.- Nitrato-reductasa endógena (NRe).

El método es el descrito por los autores anteriores, y adaptado por Valenzuela et al. (1987) en plantas crecidas en análogas condiciones, para poder utilizar la metodología descrita por Bar-Akiva et al., (1970). Se obtuvieron discos de tejido foliar con un diámetro de 5 mm y un peso de 100 mg. Dichos discos fueron incubados durante 120' a 27 °C en oscuridad en 5 ml de una solución que consistió en un tampón fosfato 100 mM (pH 7.5) y 1-propanol al 1% (v/v). Previamente a la incubación, las muestras fueron sometidas a un proceso de vacío (aproximadamente 20 mm Hg) durante 3'. El NO₂ obtenido se valoró por medio del color rojo que se desarrolla al agregar 2 ml de sulfanilamida al 1% (p/v) en HCl 1.5 N y 2 ml de dihidrocloruro de N-(1-naftil)-etilendiamida al 0.02% (p/v) preparada en HCl 0.2 N, el volumen se ajustó a una cantidad constante y la intensidad del color desarrollado se midió a 540 nm en un espectrofotómetro frente a una curva patrón de NO₂ (Snell y Snell, 1949). Los resultados se expresaron en μM de NO₂ formados en 60' y por g de peso fresco.

3.5.2.1.3.1.2.- Nitrato-reductasa inducida con NO₃ (NRind).

Su determinación se basa en el método de Bar-Akiva y Sternbaum (1966) y modificado por Bar-Akiva et al., 1970 e igualmente adaptado por Valenzuela et al. (1987)

El cambio con respecto a la NRe consiste en que el medio de incubación e infiltración está compuesto por 50 mM KNO₃, 100 mM de tampón fosfato (pH 7.5) y 1-propanol al 1% (v/v). Después del vacío, las muestras fueron incubadas durante 60' a 27 °C en oscuridad. Los NO₂ resultantes se determinaron por el método de Snell y Snell (1949) y la actividad se ha expresado igual que en el apartado anterior.

3.5.2.1.3.1.3.- Nitrato-reductasa infiltrada con Mo (NRinf).

Este método es una variante del propuesto por Shaked y Bar-Akiva (1967) y Valenzuela et al. (1987), la diferencia consistió en que dichos autores añadían al medio de incubación e infiltración $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ y KNO_3 . Nosotros suprimimos la segunda sal y añadimos Na_2MoO_4 al 2%. El tiempo de incubación y demás parámetros permanecieron igual que en el apartado 3.5.2.1.8.1.2. y la actividad de la enzima se expresó como en los dos apartados anteriores.

3.5.2.1.3.2.- Nitrato reductasa "in-vitro"

Se maceró 0.5 g de material vegetal en Buffer fosfato potasico pH 7.5, EDTA al 1 mM, Na_2MoO_4 , 2.5 mM de cisteína y 1% de PVPP (p/v). Después de una centrifugación durante 15, se procede a una incubación de las muestras que contenían, NADH 100 mM, KNO_3 0.5mM , pasado este tiempo, se para la reacción mediante una precipitación del extracto, con acetato de zinc a 0.1% (p/v), a continuación se somtieron las muestras a una nueva centrifugación. Se realizó el ensayo de la ANR de acuerdo con la metodología propuesta por Hageman y Reed (1980), determinando la concentración de nitritos formados por hora y por gramo de peso fresco.

3.5.2.1.3.3.- Nitrito reductasa "in-vitro"

Se determinó la nitrito reductasa a partir de la maceración anterior para la determinación de ANR "in-vitro". Se realizó el ensayo según la metodología descrita por Ramirez et al., (1966), midiendo el descenso en la concentración de nitritos en un medio que consistía en la mezcla de buffer fosfato potásico al 50 mM, NaNO_2 al 0.25 mM, 1 mM de metilviológeno, tras una dilución mediante la adición de 10 ml de H_2O destilada, se cogió una alicuota para realizar la lectura por espectrofotometría a una longitud de 540 nm, frente a una curva de NO_2^- . Los resultados se expresaron en μmol de nitritos destruidos/h/g p.f.

3.5.2.2.- Material vegetal seco.

La submuestra destinada al análisis de material vegetal seco fue introducida en una estufa de aire forzado a una temperatura de 60-70 °C durante un periodo de 16-24 horas (Steyn, 1959). Pasado dicho tiempo, se procedió a su molienda hasta el estado de polvo, para lo cual se empleó un molinillo "Kelner mod. K.S." con aspas de plástico con objeto de evitar posibles contaminaciones. Una vez que las muestras estaban bien molidas fueron guardadas en bolsas de plástico. El material molido se introdujo, en vasos de vidrio, en una estufa durante 16 horas a 70 °C. Pasado dicho tiempo, las muestras se dejaron enfriar en un desecador (Lachica et al., 1973.).

3.5.2.2.1.- Digestión sulfúrica.

Del material vegetal recogido y preparado como antes se ha indicado, se pesó una determinada cantidad que se sometió a una mineralización con H₂SO₄ concentrado y H₂O₂ al 30%, libre de P, (Wolf, 1982) y del mineralizado resultante se tomaron las correspondientes alícuotas en las que se determinaron los siguientes elementos: N orgánico, P, K, Na, Ca, Mg.

3.5.2.2.2.- Determinaciones.

La metodología usada para la determinación de cada uno de los elementos anteriormente citados es la siguiente:

3.5.3.2.2.1.- Nitrógeno orgánico.

Se tomó una determinada alícuota, del mineralizado sulfúrico, a la que se le añadieron determinadas cantidades de los siguientes reactivos:

- Buffer de trabajo: 0.1 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$; tartrato Na-K, al 5% y NaOH al 5.4%, despues de esta operación se agitó vigorosamente.

- Salicilato sódico-Nitroprusiato sódico (15%-0.03%, respectivamente), y también se agitó, la solución resultante.

- Hipoclorito sódico al 5.25%, y se volvió a agitar.

La mezcla resultante se dejó en reposo durante 45' a 25 °C y en oscuridad, trascurrido este tiempo se procedió a su lectura por espectrofotometría a una longitud de onda de 650 nm, frente a una curva patrón de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, agitando vigorosamente, de nuevo, cada muestra antes de proceder a su lectura espectrofotométrica, con objeto de evitar la formación de precipitados (Baethgen y Alley, 1989).

3.5.2.2.2.3.- Extracción de las formas solubles iónicas.

3.5.2.2.2.3.1.- Con medio ácido.

Se procedió a la realización de una extracción, de dichas formas, con 0.5 g de material vegetal molido y seco con 20 ml de HCl 1 N y durante un tiempo de 30' (Guzmán et al., 1986).

3.5.2.2.2.3.2.- Con medio acuoso.

Se utilizó el método propuesto por Cataldo et al. (1975). En un tubo se introdujeron 100 mg de material vegetal finamente molido y seco y se le añadieron 10 ml de agua destilada, seguidamente se procedió a su extracción en un baño termostatzado a 60 °C durante 120', pasado este tiempo se filtró y en el extracto resultante se midieron NH_4^+ , NO_3^- , Cl^- y SO_4^{2-} .

3.5.2.2.2.3.3.- Determinaciones.

3.5.2.2.2.3.3.1.- Amonio.

Con una alícuota del extracto acuoso se procedió como en el método descrito en el apartado del N orgánico.

3.5.2.2.2.3.3.2.- Nitratos.

Del extracto resultante del proceso anterior se tomó una alícuota de 0.2 ml a la que se añadieron 0.8 ml de una solución formada por ácido salicílico y ácido sulfúrico al 5%, para posteriormente adicionar 19 ml de Na(OH) 2 N y proceder a continuación a su cuantificación mediante la medida de la intensidad de color a 410 nm frente a una curva patrón de NO₃⁻ (Cataldo et al., 1975).

3.5.2.2.2.3.3.3.- Cloruros.

Para su determinación se usó el método de Koltoff y Kuroda (1951), modificado por Chapman y Pratt (1961). A una alícuota del extracto se le añadió un exceso de AgNO₃ en medio nítrico, se preparó por filtración del precipitado de AgCl y se valoró por retroceso con sulfocianuro amónico en presencia de alumbre férrico. El resultado se expresó en mg de Cl⁻/g p.s).

3.5.3.- Preparación del material de frutos

Los frutos se recolectaban desde su estadio juvenil, una vez en el laboratorio, se pesaron, lavaron una submuestra se seca en la estufa a 70°C durante 24 h según la metodología de Wolf (1982). La submuestra fresca fue sujeta a las determinaciones

siguientes

3.5.3.1- Pigmentos.

3.5.3.1.1.- Clorofilas.

El método seguido es el preconizado por Hiscox e Israelstam (1979). Dicho procedimiento consiste en sumergir en 10 ml de dimetil-sulfóxido taleolas de 5 mm de diámetro y un peso total de 250 mg en un baño termostatzado a una temperatura de 65 °C durante 60'. Pasado dicho tiempo se midió la intensidad de color en un espectrofotómetro frente al correspondiente blanco y a las longitudes de onda indicadas por Bruinsma (1963). Los contenidos en clorofilas se expresaron en mg de clorofila por cada 100 g de peso fresco según las ecuaciones de Mckinney (1941).

3.5.3.1.2.- Carotenos.

El procedimiento seguido fue el utilizado por Jaspas (1965), y consiste en una lectura realizada en el extracto anterior a una longitud de onda de 502 nm y aplicando la fórmula propuesta por dicho autor. El resultado se expresó en mg de carotenos en 100 g de peso fresco de fruto.

3.5.3.2.- Acido ascórbico.

Se procedió a la maceración de 3 g de material vegetal y se homogeneizaron en frío con ácido oxálico al 0.4%, el extracto resultante se filtró y centrifugó a 5000 g durante 10' a 4 °C. El sobrenadante se valoró con 2-6 diclorofenol-indofenol. La concentración de ácido ascórbico se expresó en mg de ácido ascórbico en 100 g de peso fresco, previo

enfrentamiento a una curva patrón del mismo ácido (Aberg, 1958).

3.5.3.3.- Acido cítrico.

Se pesaron 10 g de material vegetal y se maceraron en 25 ml de H₂O desmineralizada y se filtró. Este parámetro se determina mediante una volumetría ácido-base del filtrado con Na(OH) 0.1 N hasta persistencia de un pH 8.2, medido con pH-metro. Se ha expresado como concentración de ácido cítrico existente, en mg/100 g de peso fresco (Jarret et al., 1948).

3.5.3.4.- Acidez iónica o pH de fruto.

Se pesaron 20 g de material vegetal, se maceraron con 50 ml de H₂O destilada y se filtró con papel Albert número 242. En el extracto resultante del filtrado se midió el pH mediante un pH-metro (Aubert, 1971).

3.5.3.5.- Firmeza de fruto

Se determinó este parámetro mediante un penetrómetro modelo John Chatillon & Sons, aplicándose la presión sobre la sección ecuatorial del fruto, se mide la resistencia a la penetración: presión necesitada para la ruptura de la piel del fruto, esta resistencia se expresó en Newton.

3.5.3.6.- Compuestos sólidos solubles

Se realizó la determinación de los CSS mediante un refractómetro, modelo Universal Type N^o. 135, sobre cuyo prisma se aplicó directamente un extracto de fruto, previamente homogeneizado en medio acuoso, el ensayo se realizó a 20 °C de temperatura, factor que determina la concentración de éstos compuestos a la hora de realizar la lectura. Los resultados fueron en tantos por ciento.

3.5.4.- En material seco

3.5.4.1.- Hidratos de Carbono.

La metodología seguida fue la propuesta por Upmeyer y Koller, (1973) con las transformaciones necesarias para nuestro material vegetal. Se pesaron 100 mg de polvo vegetal y se introdujeron en un tubo de ensayo, para ser sometidos a continuación a una extracción mediante tratamiento con etanol al 80% a temperatura de 80 °C en baño termostático durante 60' y posteriormente se procedió a centrifugación a 1800 g durante 15', con objeto de obtener el sobrenadante y determinar en él la glucosa, fructosa y sacarosa presentes en el tejido vegetal. El residuo resultante se hidrolizó por medio de la enzima amiloglucosidasa a temperatura constante de 38 °C durante 48 h y en medio tamponado de acetato-acético 4 M (pH 4.5). Tras la filtración se cuantificó la concentración de almidón existente en los limbos foliares.

Los distintos hidratos de carbono fueron cuantificados frente a sus respectivas curvas patrones y a una longitud de onda 480 nm, según el método del fenol-sulfúrico (Hodge y Hofreiter, 1962).

3.6.- Productividad.

En las muestras procedentes de la recolección de los frutos, de cada uno de los tratamientos y sus repeticiones correspondientes, se efectuaron las siguientes medidas:

- .- Número de frutos, tanto comerciales como de estrío y totales.

- .- Kg/Ha de éstos, igualmente de los comercialmente válidos como de estrío y totales.

Siendo los frutos comerciales aquellos que reúnen las características propias de la comercialización, y los de estrío son aquellos que no reúnen estas características y/o los que están deteriorados.

RESULTADOS
Y
DISCUSIÓN

4.1.- Producción y parámetros de calidad de fruto

4.1.1.- Producción

Son numerosos los factores que afectan al crecimiento de la planta, la duración de su ciclo y por lo tanto a la producción (Davis y Estes, 1993). Estos factores incluyen las condiciones ambientales, la fertilización, la densidad de las plantas en caso de un cultivo en invernadero. Se ha comprobado que la densidad de las plantas de tomate crecidas en invernadero está acompañada con un descenso en la producción comercial (Mohammed y Ali, 1988), pero incrementa el tamaño y el número de frutos por planta (Frost y Kretchman, 1988). En el caso del pimiento, se ha demostrado que la fertilización nitrogenada y especialmente con P induce un aumento en la producción comercial (Cszinszky, 1984). Este autor encontró que altas dosis de P implica un incremento tanto en el tamaño como en el número de frutos por hectárea.

En cultivos bajo invernadero, y con la misma planta de pimiento, se demostró que un óptimo suministro de N es esencial para obtener una alta producción (Maynard et al., 1962). Una dosis de N comprendida entre 100 y 150 Kg/Ha conllevó a una máxima producción. Posteriormente, Batal y Smittle (1979) comprobaron que una aplicación de NO_3^- -N (20mg/kg) indujo a una máxima producción comercial.

En nuestra experiencia, la aplicación de los biorreguladores mostró que el T₅ (ANA) conllevó a la máxima producción comercial de primera expresada en N° de frutos/Ha (Tabla 2), mientras que la mínima producción comercial coincidió con el tratamiento con CCC. Nuestros resultados no están en concordancia con aquellos de Plant et al. (1964) de una experiencia con plantas de guisante, y donde la aplicación de CCC conllevó a un incremento de la cosecha, esto podría ser debido a que este biorregulador fuera aplicado al suelo directamente y no foliarmente como es nuestro caso, o bien a las diferentes estructuras de los dos frutos. El porcentaje de descenso de los N de frutos/Ha producido por T₁ podría ser explicado por la inhibición del

crecimiento vegetativo inducido por el CCC, y que hace que los N de frutos comerciales de primera recolectados sea bajo, debido a que el ciclo de las plantas tratadas sea retardado respecto a los otros tratamientos. Estos resultados podrían ser explicados por los datos de N frutos comerciales recolectados de segunda del mismo tratamiento T₁, que no presentó la mínima producción, fue el tratamiento T₂ que coincidió con el más bajo N de frutos/Ha, mientras que el máximo se presentó en el T₇ con 155.834 frutos/Ha. Refiriéndonos a estos resultados, se demostró que el ácido toluifalámico (T₇) tiene como efecto extender el período de productividad durante la primavera y el invierno de los cultivos en invernadero, por lo tanto este biorregulador se aplica para estimular el cuajado y el desarrollo del fruto (Olympos, 1976). En nuestro caso, este tratamiento indujo a una mayor producción comercial pero de segunda, es decir que el T₇ fue efectivo pero con menos grado que el ANA amida (T₅), que corresponde a la mayor producción comercial en frutos/Ha o en Kg/Ha. Resultados similares fueron encontrados por Reynolds (1988) con plantas de uva, donde se aplicó el ANA foliarmente y implicó un incremento significativo en la producción expresada en Kg/Ha.

Tabla 2.- Producción de Primera, Segunda y de Estrío y Producción Total expresada en N° frutos/Ha

Tratamiento	Primera	Segunda	Estrío	Producción Total
T1	107.292	128.959	212.917	341.876
T2	116.458	93.542	172.500	382.500
T3	115.000	105.208	190.000	410.208
T4	112.709	145.417	282.500	540.626
T5	133.750	131.667	168.750	434.167
T6	120.834	124.792	207.917	453.543
T7	118.750	155.834	228.334	502.918
T8	116.876	97.500	227.917	442.293

Por otra parte, el tratamiento con retardantes del crecimiento y análogos al CCC aplicados a las plantas de uva del experimento anteriormente mencionado, indujo un descenso en la producción en Kg/Ha no significativo, pero se obtuvo mayor peso de los granos de uva con respecto al control (Reynolds, 1988). Estos resultados confirman que el ANA tiene una influencia directa o indirecta sobre el crecimiento de la planta y también sobre la producción.

En nuestra experiencia, el tratamiento con AG₃ (T₈) produjo un incremento en la producción comercial de primera, de segunda y de estrío, pero este aumento con respecto al control no fue tan reflejado como en el caso de T₅. Se sabe que la aplicación de giberelinas incrementa el crecimiento, induce la floración y por lo tanto la fructificación de plantas de tomate (Rappaport, 1957), sin embargo estos efectos no llevan consigo un incremento en el tamaño de los frutos.

En cuanto a la producción comercial expresada en Kg/Ha, se denota de nuevo que el tratamiento T₅ (ANA) (Tabla 3), coincidió con la mayor producción comercialmente válida y de primera. Comparando estos resultados con los de la producción en frutos/Ha, se confirma que el ANA además produce un incremento no solamente en el número sino también en el peso de frutos/Ha. Se ha visto por otros autores que en ciertas condiciones, por ejemplo la salinidad, el número de frutos era mayor, sin embargo la producción comercial expresada en Kg/ha era mínima (López-Cantarero y Romero, 1993). Estos resultados destacan la efectividad del T₅ en la producción.

Si observamos los datos de la producción total en N de frutos/Ha, se resalta el T₄ como máximo y no el T₅ como podríamos esperar. Esta mayor producción, es debida al gran número de frutos de estrío (no comerciales) recolectados en este tratamiento. Podemos pensar que el biorregulador Biozyme (T₄) implica la formación de un gran número de frutos pero de baja calidad en cuanto al peso, color, o tamaño.

Asímismo consideramos que el T₄ incrementa el cuajado del fruto, el N° de frutos y probablemente conlleva a pérdidas económicas.

Tabla 3.- Producción de Primera, Segunda y de Estrío y la Producción Total expresada en Kg/Ha

Tratamiento	Primera	Segunda	Estrío	Producción Total
T1	24.771	14.959	8.959	48.689
T2	26.833	11.042	9.208	37.967
T3	25.917	11.834	8.458	46.209
T4	26.396	15.855	11.125	53.376
T5	30.230	15.480	8.958	54.668
T6	27.063	14.188	9.083	50.334
T7	26.250	16.688	9.542	52.480
T8	25.667	11.459	10.875	48.001

El efecto de los biorreguladores sobre la producción comercial de primera expresada en Kg/Ha, pone de manifiesto el T₅ que coincidió con la máxima y el T₁ con la mínima producción, presentando un 22% de diferencia entre ambos tratamientos.

Nuestros resultados de producción total fueron mayores respecto a aquellos obtenidos por Sánchez y Romero (1995), con la misma planta a la que se aplicó dosis diferenciadas de NK, obteniendo un 7% de diferencia en la producción total media entre ambas experiencias.

En cuanto a la producción comercial de segunda (Kg/Ha), se destaca de nuevo el T₇ con el máximo valor presentando un incremento de 51% respecto al mínimo obtenido en el T₂.

Un análisis de la tabla 3, nos muestra que el biorregulador T₅ coincide con la máxima producción en Kg/Ha, y con un valor bajo de frutos de estrío, en comparación con el T₄ que presentó el máximo en estos frutos, con un 24% de diferencia entre ambos. Estos resultados nos induce a pensar que el ANA-amida es un biorregulador aplicable a las plantas de pimiento, con el fin de obtener un mayor N° de frutos comerciales y la mayor producción comercial y total en Kg/Ha, y por lo tanto sin pérdidas económicas.

El tratamiento con giberelinas en nuestra experiencia, no se destacó tanto como el T₅, en un trabajo anterior realizado por Valero (1993), se consideró el tratamiento con AG₃ efectivo para el incremento de la producción total de árboles de citrus, resultando en un 19% de aumento en los árboles tratados respecto al testigo. En nuestra experiencia, con plantas de pimiento, el efecto del biorregulador T₈ (AG₃) no fue tan pronunciado como el caso de los citricales, sin embargo podemos decir que fue efectivo relativamente, en comparación con las plantas control y también con el T₃.

Si estudiamos el efecto del T₄ sobre la producción, encontramos que tanto en N° de frutos/Ha como en Kg/ha los máximos de frutos de estrío no comerciales (Tabla 2 y 3). Como se ha descrito previamente en material y métodos, la composición del biorregulador T₄ consiste en una mezcla de Zeatina, Giberelina, Auxina y micronutrientes; los resultados obtenidos con T₅ y T₈ analizados individualmente fueron positivos en cuanto a la producción comercialmente válida de primera y de segunda, se puede pensar que el efecto conjunto de los tres fitorreguladores sería el responsable de este descenso en la calidad de los frutos, o por un efecto propio de la zeatina. En otros estudios sobre citricales, se ha obtenido tras un tratamiento con kinetina, un incremento en la producción y tamaño de los frutos, resultando en frutos más grandes y homogéneos con respecto al control (Valero, 1993), lo que confirma el papel de este biorregulador como estimulante del crecimiento (Skoog y Armstrong, 1970). Si observamos los datos de peso fresco de los frutos, notamos que el T₄ correspondió al

máximo, y por consiguiente al mayor tamaño de frutos. Se demostró anteriormente que las auxinas, giberelinas y citoquininas incrementan el tamaño del fruto, por un proceso de aumento en el tamaño y/o en el número de células (Crane, 1964; Coombe, 1976). Posteriormente, se ha comprobado que estos biorreguladores son efectivos para las plantas de patata, pimiento, plátano y naranjos (Chapman y Chapman, 1980).

Por escasez de bibliografía referente al efecto de las citoquininas exógenas sobre la producción y especialmente la calidad de los frutos, y según nuestra experiencia, el biorregulador T₄ indujo un incremento en el tamaño y el número de frutos, pero la mayoría son no comerciales.

Parece ser que el tratamiento T₂ tuvo un efecto sobre la producción, esta influencia nos induce a pensar que la materia orgánica presente en el T₂ fue responsable del leve incremento respecto al control, pero cuando comparamos los resultados de la producción a nivel de los tratamientos T₂ y T₃, cuya composición se diferencia por el aporte de micronutrientes (ver tabla de material y métodos), denotamos un ligero incremento tanto en el peso como del número de frutos/Ha. Aunque no existen estudios que relacionan los micronutrientes con la productividad de las plantas, sin embargo nuestros resultados fueron concordantes con los obtenidos por Csizinszky (1984), que aplicó foliarmente una mezcla de micronutrientes, que incremento de manera significativa la producción tanto en número como en Kg/ha de frutos comerciales. Por otra parte existen estudios sobre la utilización de Zn o de Cu en la agricultura, como pesticidas, o fungicidas en árboles y hortalizas (Adriano, 1986).

El efecto de los tratamientos T₈ y T₆ sobre la producción fue similar al del T₂. Se destaca el tratamiento con CCC que redujo el número y los Kg/Ha de los frutos comerciales de primera. En otros trabajos realizados con cebada, el efecto fue inverso: la aplicación del CCC en un tiempo adecuado, induce un incremento en el número de espigas y de brotes por planta (Ma y Smith, 1992).

La influencia de los demás tratamientos T_6 o T_8 sobre la producción fue similar al T_2 . Resumiendo, podemos decir que los biorreguladores aplicados tuvieron un efecto directo sobre la producción tanto en número de frutos como en Kg/Ha, y así en un año de cultivo, se recolectaron los frutos dos veces. En comparación con una experiencia anterior y con la misma planta, el ciclo de la planta fue más corto con dos meses de diferencia respecto a nuestra experiencia.

4.2.- Calidad de fruto

la calidad del fruto está condicionada por varios factores. Una óptima producción de frutos implica una máxima distribución de fotosintatos al fruto con el fin de obtener una producción adecuada tanto en calidad como en cantidad (Myers, 1993).

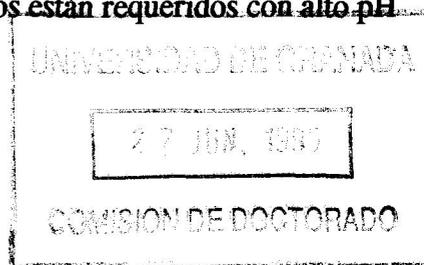
En muchas especies de plantas o árboles, el control de distribución de los fotosintatos está relacionado con ensayos a nivel genético, de los reguladores del crecimiento y del manejo del cultivo.

En nuestra experiencia, hemos determinado algunos parámetros que podrían ser de gran utilidad a la hora de interpretar o de comparar con los datos de producción anteriormente expuestos.

Se sabe que los parámetros de calidad de pimiento incluyen: acidez, color, firmeza, concentración de ácidos orgánicos y azúcares y el contenido de compuestos sólidos solubles (CSS).

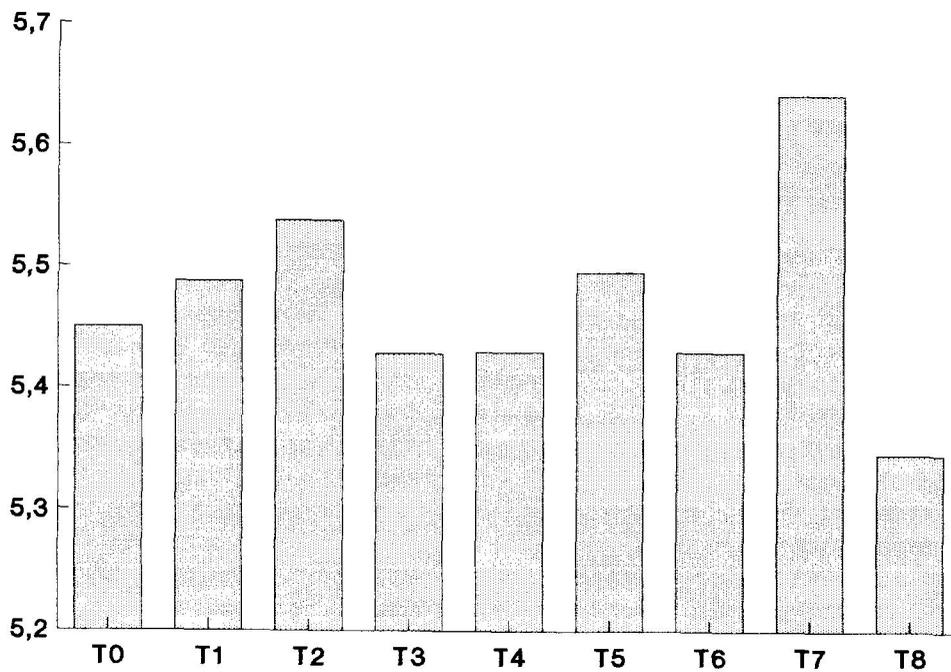
4.2.1.- pH del fruto

Se considera el pH del fruto como un factor determinante de la calidad, está condicionado por la composición del fruto. Algunos frutos están requeridos con alto pH.



según la necesidad del mercado. Se ha comprobado que la aplicación de algunos biorreguladores tiene un efecto directo o indirecto sobre la composición de los frutos, y por consiguiente en el pH de éstos (Reynolds, 1988).

Fig. 1: Efecto de los Tratamientos sobre el pH de fruto



En nuestra experiencia, el mayor valor de pH coincidió con el tratamiento T₇ (pH= 5.642), y el menor en T₈ (5.34) (Fig. 1). A nivel de todos los tratamientos, incluso el testigo las variaciones en el pH fueron muy leves, sin embargo, los cambios podrían ser orientativos para poner de manifiesto algunos cambios fisiológicos en el fruto.

4.2.2.- Acido ascórbico y Cítrico

El mínimo valor de pH obtenido en el T₈ podría ser debido también a las máximas concentraciones de ácido cítrico y ascórbico, se obtuvo una correlación negativa $r = -0.303$, $P = 0.125$ entre el pH y el ácido cítrico. Los resultados de ácido ascórbico fueron similares en todos los tratamientos, pero se destaca el T₇ y T₈ que presentaron un 28% de incremento con respecto al testigo. El resultado del ácido cítrico a nivel de los tratamientos fue más heterogéneo, el T₈ de nuevo mostró la máxima concentración, obteniéndose un 34% de incremento respecto al testigo (Fig. 2), mientras que los tratamientos T₁, T₂ y T₃ presentaron en general valores muy aproximados a los del testigo. Parece que los tratamientos T₁ y T₈ actúan de manera opuesta sobre el contenido de ácido ascórbico (Fig. 3) y especialmente el cítrico. Se ha obtenido un 16% y 37% de descenso en T₁ respecto al T₈ para el ácido ascórbico y cítrico respectivamente. Parece que el T₈ implica la acumulación del ácido cítrico en el fruto, este acumulo podría ser debido a una acción del AG₃ sobre la translocación desde las hojas o bien sobre la síntesis "in situ" del ácido orgánico (Valpuesta et al., 1993), además de la alta concentración de ácido ascórbico conllevó a un pH bajo. La acidez elevada en los frutos tratados con T₈, es un buen criterio para el procesamiento de los frutos (Davis y Hobson, 1981).

El descenso de pH con respecto al control en el T₈, sería debido a un incremento en el crecimiento del órgano, por el estímulo en la división celular y por lo tanto un incremento en el volumen de células provocado por el AG₃ (Coombe, 1976). El porcentaje (3.4%) de incremento obtenido en el T₇ respecto al control y comparándolo con el resultado de AG₃, podríamos deducir que el T₇ implicó un crecimiento lento de los frutos, aunque teóricamente sería el T₁ que podría tener este efecto. Existe un porcentaje de incremento, pero muy bajo, en el pH entre las plantas testigo y las tratadas con T₅. Este resultado es inverso al obtenido por Reynolds (1988) con plantas

de uva, y donde la aplicación de ANA conllevó a un incremento, también bajo, en el pH de los frutos pero sin afectar a la producción (Miller y Ware, 1980).

Fig. 2: Efecto de los biorreguladores sobre la concentración de ácido cítrico en fruto

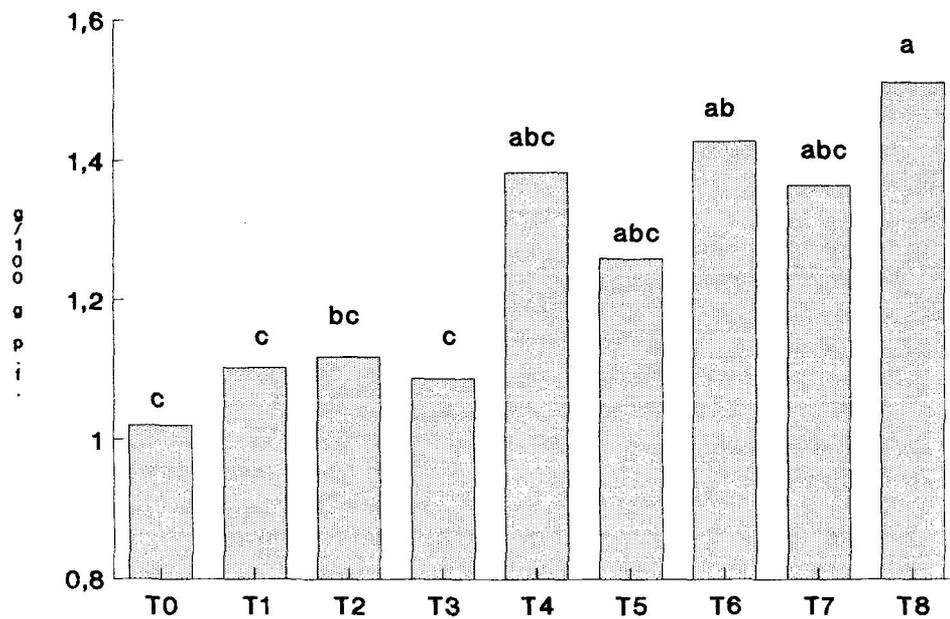
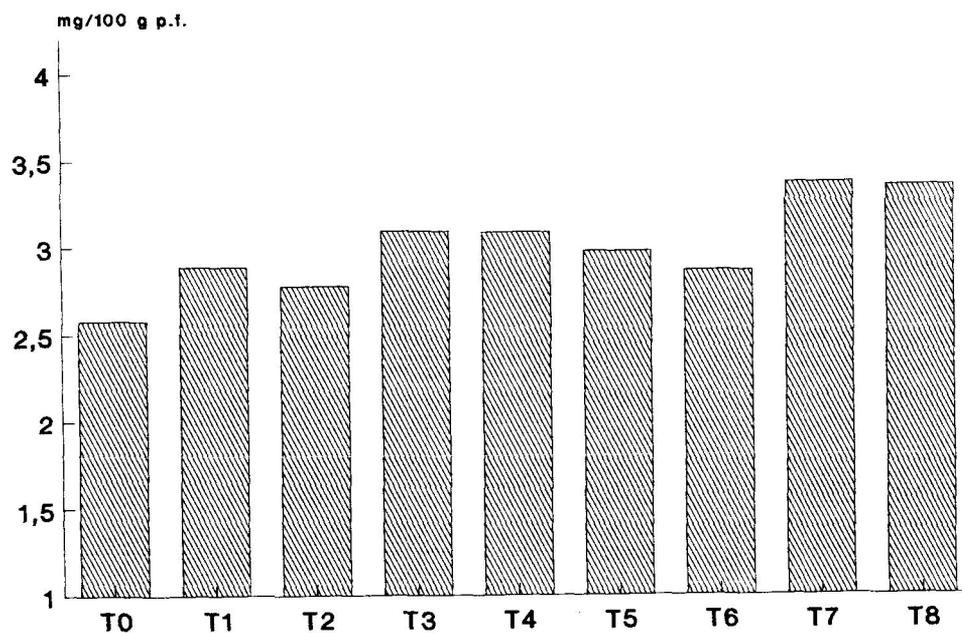


Fig. 3: Efecto de los tratamientos sobre concentración de ácido ascórbico en frutos



4.2.3.- Firmeza del fruto

Los resultados de firmeza obtenidos, muestran claramente un efecto del T₈ (AG₃) sobre este parámetro de calidad de fruto, resultando en un máximo con un 6% de incremento significativo respecto al testigo, la mínima se observó a nivel de T₄ con un 6% de descenso (Fig. 4).

Fig. 4: Efecto de los tratamientos sobre la firmeza de frutos

