



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO
POSGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
FRUTICULTURA**

**REGULACIÓN DEL PROCESO DE FLORACIÓN Y DESARROLLO
DE FRUTOS DE MANGO 'ATAULFO' MEDIANTE
BIORREGULADORES DE CRECIMIENTO**

MARÍA HILDA PÉREZ BARRAZA

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS POR INVESTIGACIÓN**

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

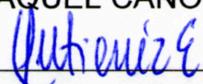
2015

La presente tesis, titulada: **Regulación del proceso de floración y desarrollo de frutos de mango 'Ataulfo' mediante biorreguladores de crecimiento**, realizada por la alumna: María Hilda Pérez Barraza, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

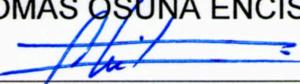
DOCTORA EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD
FRUTICULTURA

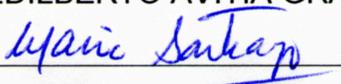
CONSEJO PARTICULAR

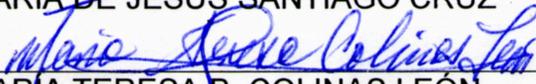
CONSEJERO: 
DRA. RAQUEL CANO MEDRANO

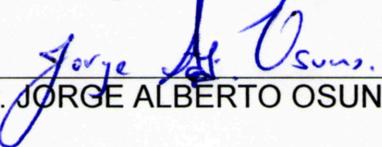
ASESORA 
DRA. MARÍA ALEJANDRA GUTIÉRREZ ESPINOSA

ASESOR 
DR. TOMÁS OSUNA ENCISO

ASESOR 
DR. EDILBERTO AVITIA GRACÍA

ASESORA 
DRA. MARÍA DE JESÚS SANTIAGO CRUZ

SINODAL 
DRA. MARÍA TERESA B. COLINAS LEÓN

SINODAL 
DR. JORGE ALBERTO OSUNA GARCÍA

Montecillo Texcoco, México, Diciembre de 2015

REGULACIÓN DEL PROCESO DE FLORACIÓN Y DESARROLLO DE FRUTOS DE MANGO 'ATAULFO' MEDIANTE BIORREGULADORES DE CRECIMIENTO

María Hilda Pérez Barraza, Dra.
Colegio de Postgraduados, 2015

RESUMEN

Floración irregular, bajo amarre y alta producción de frutos sin semilla son factores limitantes en la producción de mango 'Ataulfo'. Los objetivos fueron a) aumentar la productividad de mango 'Ataulfo' en Nayarit b) desarrollar tecnologías de producción eficientes y c) tipificar los productores de mango y determinar rentabilidad del cultivo. La investigación se desarrolló de Enero de 2012 a Junio de 2015. Durante 2012-2013 se realizaron experimentos para determinar el tipo de biorregulador, número de aplicaciones y etapa fisiológica más adecuada para aumentar amarre y tamaño de fruto. Durante 2013-2015 se estudió el efecto de inhibidores de crecimiento en el proceso de floración, así como en la expresión de los genes de floración, en este último estudio además el efecto de giberelinas (AG₃). Tanto paclobutrazol (PBZ) como prohexadiona de calcio (P-Ca) aceleraron el proceso de iniciación-diferencial floral, lo que condujo a una floración adelantada en 25 y 30 días y mayor porcentaje de floración (87 y 92%). Tiazuron (TDZ) y AG₃ combinados aumentaron el amarre de fruto en Etapa II de crecimiento del fruto y con TDZ en Etapa I y AG₃ en Etapa II. Estos resultados estuvieron relacionados con fecundación, al estimular división y un rápido crecimiento de fruto por expansión celular. El mayor tamaño de fruto, menor proporción de frutos partenocárpicos y mayor rendimiento, se obtuvieron con una aplicación de TDZ en Etapa I + tres aplicaciones de AG₃ en Etapa II y III lo que se relacionó con el tamaño de la demanda. Se generaron cinco tecnologías y su rentabilidad. El 84% de los productores de mango son en pequeña escala y usan menos tecnología en sus huertos, lo que los hace vulnerables a una baja productividad.

Palabras claves: *Mangifera indica* L., citocininas, giberelinas, inhibidores de giberelinas, relación beneficio/costo.

REGULATION OF FLOWERING PROCESS AND FRUITS DEVELOPMENT OF 'ATAULFO' MANGO BY GROWTH BIOREGULATORS

María Hilda Pérez Barraza, Dra.
Colegio de Postgraduados, 2015

ABSTRACT

Irregular flowering, low fruit setting and high fruit production of seedless fruits are factor that restrict the 'Ataulfo' mango production. The aims of this study were a) to increase the 'Ataulfo' mango productivity in Nayarit b) to develop efficient production technologies and c) to typify mango growers and to determined crop profitability. The research was conducted in January 2012 to June 2015. During 2012-2013 were determinate the type of bioregulator, number of applications and the best physiological stage to increase fruit setting and size. During 2013-2015 was studied the effect of growth inhibitors in the flowering process, as well as the flowering genes expression and also the effect of gibberellins (AG₃). Both paclobutrazol (PBZ) and prohexadione calcium (P-Ca) accelerate the floral initiation-differential process, leading to an early blooming in 25 and 30 days and higher percentage of flowering (87 and 92%). The combination Tiadiazuron (TDZ) and AG₃ increased the fruit set in the fruit growing stage II and also with TDZ in stage I and AG₃ in stage II. The results were related with fertilization, by stimulating cell division and rapid fruit growth by cell expansion. The larger fruit, the lower proportion of parthenocarpic fruits and higher yield were obtained with the application of TDZ in stage I + three AG₃ applications in stage II and stage III, which is relates to the size of demand. Five technologies were generated and its profitability. The 84% of mango growers on a small scale and use less technology in theirs orchards which made them vulnerable to low productivity.

Key words: *Mangifera indica* L., cytokinins, gibberellins, gibberellins inhibitors, benefice/cost relation.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por haberme dado una segunda oportunidad y permitirme alcanzar otra de mis numerosas metas en la vida.

Al Colegio de Postgraduados, por abrir sus puertas a una nueva modalidad y brindarme la oportunidad de obtener este grado en una Institución de Excelencia. Agradezco infinitamente, además; el apoyo económico otorgado a través de su Fideicomiso.

Un agradecimiento especial a los integrantes de mi consejo, Dra. Raquel Cano Medrano, Dra. Alejandra Gutiérrez Espinosa, Dr. Tomás Osuna Enciso, Dr. Edilberto Avitia García y Dra. María de Jesús Santiago Cruz. Fui afortunada al contar con personas de gran experiencia, cuyos conocimientos y enfoques aportados, dieron lugar a un exitoso trabajo en bien del Sistema Producto Mango. Gracias, por su amistad.

A mis sinodales, Dra. María Teresa B. Colinas León y Dr. Jorge A. Osuna García, por su contribución y valiosos comentarios durante la revisión de la tesis. Gracias también por su amistad.

Al Ing. Elías Montoya Bugarín, Tec. Lab. Verónica Santos Cárdenas, M.C. Adriana Isabel Pérez Luna e Ing. Brenda Murillo Casas. Un gran equipo de trabajo. Gracias por su excelente apoyo y trabajo de campo realizado en cada una de las actividades de esta investigación. Sobre todo, gracias por su cariño, afecto y entrega.

Un sincero agradecimiento y respeto a los productores de mango de Nayarit, que han confiado siempre en mi trabajo y sin ninguna retribución, más que una tecnología que les permita producir y ser más competitivos en el mercado, han aportado sus huertos para la realización de este y muchos otros trabajos de investigación. En especial al Sr. Abelardo González, Maurilio Montoya, Everardo Castañeda, Albino Hernández, Sra. Rogelia Bugarín, Arturo Castellón, Javier Castellón, Raymundo Lambarena y Antonio Arenas[†],

A todas aquellas personas que contribuyeron a la realización de este trabajo, apoyando desde un laboratorio o invernadero. María Emma, Gabriel, Mario, Memo, Nelly y Verito. Gracias también por brindarme su amistad.

A María Emma, Isis, Fany y Alejandro. Gracias por su amistad y cariño.

GRACIAS A LA VIDA, QUE ME A DADO TANTO.....

Violeta Parra

DEDICATORIA

A quienes forman mi mayor tesoro, mi motor de borda que me inspira a seguir adelante en esta aventura extraordinaria de la vida, **MIS HIJOS: Víctor Alejandro Vázquez Pérez y Allan Axel Vázquez Pérez**. Sin ellos estaría perdida. Gracias por existir y alentarme siempre en cada momento para seguir adelante. Los amo indescriptiblemente.

A la memoria de un hombre Justo, Trabajador, Responsable y Excelente Investigador: **Victor Vázquez Valdivia[†]**, Fuiste un gran Esposo y Padre que nos dejaste un legado de grandes ejemplos y valores a seguir. Así te recordaremos siempre.

A mi familia, que de igual forma me han alentado a seguir adelante en cada meta de mi vida: Mis hermanos y hermanas que aunque lejos, siempre se mantienen cerca de mí a través de su amor y apoyo. A Laura, Valente y Ari por su cariño, apoyo y compañía. A todos mis sobrinos y sobrinas.

A Adriana Isabel, por mantenerse siempre cerca de mí a través de su amor y apoyo.

CONTENIDO

	Página
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Inducción, iniciación, diferenciación y brotación floral.....	3
Genes relacionados con el proceso de floración.....	8
Polinización y fecundación.....	12
Amarre y crecimiento de fruto.....	15
Importancia del cultivo, rentabilidad y tipología de productores.....	17
CAPÍTULO III. BIORREGULADORES DEL CRECIMIENTO EN INICIACIÓN, DIFERENCIACION Y GENES DEL PROCESO DE FLORACIÓN.....	21
Introducción.....	21
Materiales y Métodos.....	26
Resultados.....	33
Discusión.....	38
Conclusiones.....	45
CAPÍTULO. IV. BIORREGULADORES DE CRECIMIENTO EN BROTACIÓN FLORAL.....	57
Introducción.....	57
Materiales y Métodos.....	59
Resultados.....	61
Discusión.....	63
Conclusiones.....	67
CAPÍTULO V. BIORREGULADORES DE CRECIMIENTO EN AMARRE, CRECIMIENTO DE FRUTO Y TAMAÑO DE LA DEMANDA.....	75

Introducción.....	75
Materiales y Métodos.....	82
Resultados.....	87
Discusión.....	93
Conclusiones.....	99
CAPÍTULO VI. TIPOLOGÍA DE PRODUCTORES Y	
RENTABILIDAD.....	116
Introducción.....	116
Materiales y Métodos.....	118
Resultados.....	120
Conclusiones.....	123
CONCLUSIONES GENERALES.....	128
LITERATURA CITADA.....	129

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO III

Cuadro Núm.		Página
3.1	Cantidad y calidad de RNA y cDNA en Hojas de mango 'Ataulfo'.....	53
3.2	Cantidad y calidad de RNA y cDNA en yemas de mango 'Ataulfo'.....	53

CAPÍTULO IV

Cuadro Núm.		Página
4.1	Días a plena brotación floral, adelanto y porcentaje de floración en árboles de mango 'Ataulfo' con con y sin biorregulador de crecimiento. Ciclo 2012-2013.....	69
4.2	Número inicial de frutos POL y PRT y amarre final de POL en árboles de mango 'Ataulfo' con P-Ca. Ciclo 2012-2013.....	70
4.3	Días a brotación floración, adelanto e intensidad de floración en árboles de mango 'Ataulfo' con P-Ca. Ciclo 2013-2014.....	73

CAPÍTULO V

Cuadro Núm.		Página
5.1	Número de frutos·inflorescencia ⁻¹ a los 45 DDF (inicial) y dos semanas antes de cosecha (final) en árboles de mango 'Ataulfo' tratados con 50 mg·L ⁻¹ de AG ₃ . Nayarit, México. 2014.....	100
5.2	Número de frutos·inflorescencia ⁻¹ a los 45 DDF (inicial) y dos semanas antes de cosecha (final) en mango 'Ataulfo'. Nayarit, México, 2014.....	104
5.3	Rendimiento y peso fresco de frutos partenocárpicos (PRT)	

y polinizados (POL) de mango 'Ataulfo' tratados con TDZ a los 0 DDF +1-4 aplicaciones de AG ₃ . Nayarit, México. 2014.....	107
---	-----

CAPÍTULO VI

Cuadro Núm.		Página
6.1	Número de productores por estrato (superficie en ha) y tamaño de muestra.....	118
6.2	Porcentaje de productores que realizan o aplican tecnologías en el cultivo de mango 'Ataulfo' por estrato.....	124
6.3	Costos de cultivo y rendimiento/ha con tecnología tradicional por estrato. Datos derivados de las entrevistas.....	125
6.4	Relación beneficio costo con la tecnología tradicional.....	125
6.5	Costo de las tecnologías generadas para amarre y crecimiento de fruto.....	125
6.6	Costo de la tecnología generada para floración irregular.....	126
6.7	Costo de cultivo con tecnologías generadas.....	126
6.8	Relación B/C usando PBZ para modificar floración.....	126
6.9	Costo de cultivo con tecnología generada.....	127
6.10	Relación B/C usando P-Ca para modificar floración.....	127

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO III

Figura Núm.		Página
3.1	A. Estadio 1. Meristemo vegetativo apical (mva) en forma de cúpula y con primordios foliares (pf). Taninos (ta) y médula meristemática (mm). B. Yema de forma puntiaguda con escamas (es) completamente cerrada.....	46
3.2	A. Estadio 2, iniciación floral, ligero alargamiento del meristemo apical con presencia de meristemas (m) en las axilas de las brácteas. B. Yema ensanchada en la base con ligera apertura de escamas (es) en el ápice.....	46
3.3	Estadio 3. Alargamiento del eje principal de la inflorescencia (raquis) (epi) sin taninos y formación de protuberancias meristemáticas (pm) de ejes secundarios en ápice y desarrollo de ejes secundarios (es) en la base con protuberancias meristemáticas (pm) de ejes terciarios. B. Externamente, yema hinchada de forma redonda con escamas (es) completamente separadas.....	47
3.4	Figura 3.4. A. Estadio 4. Eje secundario presentando alargamiento de ejes terciarios de la inflorescencia (eti) y la formación de meristemas reproductivos (mr) en las axilas de los hipsófilos (hi) así como el desarrollo de primordios de sépalos(ps), primordios de pétalos (pp) y primordios de estambres (pe). B. Externamente la inflorescencia emerge entre las brácteas.....	47
3.5	Temperatura y precipitación (A) y desarrollo de yema (B) en brotes apicales de mango 'Ataulfo' tratados con biorregulador de crecimiento.	48

3.6	Figura 3.6. Porcentaje de yemas diferenciadas (Estadio 4) ocho días antes de inicio a floración. La fecha corresponde al momento en que se presentó E4.....	49
3.7	Temperatura y precipitación (A) y desarrollo de yema (B) en brotes apicales de mango ‘Ataulfo’ tratados con biorregulador de crecimiento.....	50
3.8	Porcentaje de yemas diferenciadas (E4) ocho días antes de inicio a floración. La fecha corresponde al momento en se presentó E4. E1) Estadio 1, yema vegetativa.....	51
3.9	Porcentaje de floración en árboles tratado con biorreguladores de crecimiento. Las barras en cada punto representan el promedio de 6 árboles por tratamiento \pm error estándar.....	52
3.10	Expresión de <i>MiFT</i> con relación a <i>MiEF</i> en hojas de mango tratadas con PBZ. Las barras en cada punto representan el promedio de 36 yemas por tratamiento \pm error estándar.....	54
3.11	Temperatura máxima, mínima y precipitación presentadas durante el periodo de inducción, iniciación y brotación floral en mango ‘Ataulfo’.....	55
3.12	Expresión relativa de <i>MiFT</i> respecto a <i>MiEF</i> en hojas de mango ‘Ataulfo’ con y sin biorregulador de crecimiento. Las barras en cada punto representan el promedio de 36 yemas por tratamiento \pm error estándar.....	55
3.13	Porcentaje y tipo de crecimiento emergido durante el periodo de floración en brotes de mango ‘Ataulfo’ tratados con biorreguladores y sin tratar y ubicados en diferente orientación en el árbol. 2014.....	56

CAPÍTULO IV

Figura Núm.

Página

4.1	Longitud del brote vegetativo emergido después de poda (23
-----	--

	de julio) en árboles de mango 'Ataulfo'. A) P-Ca cuatro aplicaciones (4X) de cada dosis ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) a 0+10+20+30 ddp (E1). B) P-Ca 3X de cada dosis a 30+45+60 ddp (E2). C) P-Ca ($500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 1X a 0 ddp, 2X a 0+10 y 3X a 0+10+20 días (E3). PBZ ($2500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 1X a 30 ddp y Testigo. 2013.....	68
4.2	Producción de fruta en árboles de mango 'Ataulfo'. A) P-Ca 4X de cada dosis ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) a 0+10+20+30 ddp (E1). B) P-Ca ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 1X a 0, 2X a 0+10 y 3X, a 0+10+20 ddp (E3).....	71
4.3	Figura 4.3. Longitud del brote vegetativo emergido después de la poda (24 julio) en árboles de mango 'Ataulfo'. P-Ca 150 y 500 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 3X a 30+45+60 ddp y 1500 1X a 30 ddp. Las fechas corresponden al inicio y término de cada flujo.....	72
4.4	Producción de fruta en árboles de mango 'Ataulfo' con P-Ca. Las barras en cada punto representan el promedio de 6 árboles por tratamiento \pm error estándar. Ciclo 2013-2014.....	74

CAPÍTULO V

	Figura Núm.	Página
5.1	Crecimiento acumulado y tasa de crecimiento relativo de frutos PRT de mango 'Ataulfo' tratados con aplicaciones simples de AG_3 ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y en combinación con TDZ ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en aplicaciones repetidas.....	101
5.2	Crecimiento acumulado y tasa de crecimiento relativo de frutos POL de mango 'Ataulfo' tratados con aplicaciones simples de AG_3 ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y en combinación con TDZ ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en aplicaciones repetidas.....	102
5.3	Rendimiento y peso fresco obtenido en árboles de mango 'Ataulfo' tratados con aplicaciones simples de AG_3 y en combinación con TDZ.....	103
5.4	Crecimiento acumulado y tasa de crecimiento relativo de	

	frutos PRT de mango ‘Ataulfo’ tratados con TDZ a los 0 DDF + AG ₃ a los 15 (T1) 15+30 (T2), 15+30+45(T3) y 15+30+45+60 (T4) DDF y testigo (T5).....	105
5.5	Crecimiento acumulado y tasa de crecimiento relativo de frutos POL de mango ‘Ataulfo’ tratados con TDZ a los 0 DDF + AG ₃ a los 15 (T1) 15+30 (T2), 15+30+45(T3) y 15+30+45+60 (T4) DDF y testigo (T5).....	106
5.6	Porcentaje de frutos polinizados (POL) y partenocárpicos (PRT) obtenido en árboles de mango ‘Ataulfo’ tratados con TDZ a 0 DDF + AG ₃ a 15 (T1) 15+30 (T2), 15+30+45(T3) y 15+30+45+60 (T4) DDF y testigo (T5). Nayarit, México, 2013.....	108
5.7	Longitud (A) y diámetro (B) de frutos partenocárpicos con y sin aplicación de biorregulador de crecimiento. 1X, una aplicación a 0 DDF; 3X, tres aplicaciones a 15+30+45 DDF; 4X, cuatro aplicaciones a 15+30+45+60.....	109
5.8	Contenido de fructosa (A), glucosa (B) y sacarosa (C) en frutos partenocárpicos (PRT) y polinizados (POL) de mango ‘Ataulfo’.....	110
5.9	Número de células de la sección transversal del mesocarpio de frutos partenocárpicos en desarrollo de mango ‘Ataulfo’.....	111
5.10	Tamaño de células de la sección transversal del mesocarpio de frutos partenocárpicos en desarrollo de mango ‘Ataulfo’.....	112
5.11	Tamaño de células de la sección transversal del mesocarpio de frutos partenocárpicos y polinizados de mango ‘Ataulfo’, 45 días DDF.....	113
5.12	Número de células en mesocarpio de frutos partenocárpicos de mango ‘Ataulfo’ con una aplicación de TDZ a 0 DDF + tres aplicaciones de AG ₃ a 15+30+45 DDF en la Etapa I de rápido crecimiento de fruto (A) e inicio de Etapa II (D). Número de células en frutos tratados con cuatro aplicaciones de	

	TDZ+AG3 a 15+30+45+60 DDF en la Etapa I de rápido crecimiento de fruto (B) e inicio de Etapa II (E). Número de células en frutos sin biorregulador de crecimiento en la Etapa I de rápido crecimiento de fruto (C) e inicio de Etapa II (F). ep, epicarpio; hi, hipocarpio; m, mesocarpio.....	114
5.13	Tamaño de células en frutos polinizados (A) y partenocárpicos (B) a 45 DDF, tratados con cuatro aplicaciones de TDZ+AG3 a 15+30+45+60 DDF.....	115

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

En años recientes la floración irregular y el bajo amarre de frutos han sido factores limitantes en la producción de mango 'Ataulfo'. Además, la alta producción de frutos sin semilla en este cultivar, disminuye el rendimiento.

En frutales como mango, el número de flores producidas se establece el año anterior a la producción, mientras que el número de frutos dependerá del éxito de los procesos de polinización, fecundación y amarre de fruto.

Numerosos estudios coinciden en que la inducción floral en mango es estimulada por temperaturas bajas en condiciones subtropicales, mientras que en tropicales la edad de los brotes y un periodo de reposo son determinantes. Se sabe que un estímulo o señal dispara un promotor floral que se transporta de las hojas al meristemo apical vía floema. En *Arabidopsis thaliana* se ha identificado la proteína FT como la responsable de la inducción floral y se cree que en frutales como mango pudiera ser también el promotor floral tan buscado.

Existen estudios sobre el periodo en que ocurre la diferenciación floral y los numerosos factores que la afectan. Específicamente en mango los estudios reportados, han mostrado que las giberelinas (GAs) pueden inhibir o retrasar el proceso. Por otro lado, en varias especies tropicales se conoce el efecto en el crecimiento vegetativo y brotación floral de inhibidores de síntesis de GAs como paclobutrazol (PBZ), aunque otros como prohexadiona de calcio (P-Ca), han sido enfocados en su mayoría a frutales templados.

Respecto a polinización hay evidencia que es afectada por factores internos como presencia de flores imperfectas, hetrostilia, periodo de polinización efectiva, baja viabilidad del grano de polen e incompatibilidad, y externos donde temperatura, viento, lluvia y presencia de polinizadores son importantes. En amarre y crecimiento del fruto; polinización y fecundación, como se mencionó anteriormente, tienen un papel importante así como hormonas y nutrición.

En mango 'Ataulfo', se desconoce la identidad del promotor floral y hay poca información de la regulación interna de este proceso desde el punto de vista molecular. Hacen falta estudios para elucidar el efecto fisiológico y molecular y entender la

relación entre las GAs y el proceso de floración. Además, el efecto fisiológico y anatómico de los inhibidores de GAs en el proceso de inducción, iniciación y diferenciación floral y de biorreguladores del crecimiento en polinización, amarre y crecimiento de fruto, es aún desconocido.

Es posible que la floración errática sea debido a un proceso de Inducción/diferenciación deficiente relacionado con humedad y temperaturas altas (> 20°C), a través de su efecto en el contenido de giberelinas. Por tanto, la aplicación de biorreguladores del crecimiento, como P-Ca y PBZ, podrían promover la inducción floral acelerando el proceso de diferenciación a través de la detención del crecimiento vegetativo. Es así que P-Ca y PBZ podrían sustituir el estímulo de la temperatura fresca inductiva a floración para obtener floraciones regulares.

Por otro lado, los biorreguladores ácido giberélico (AG_3) y thidiazuron (TDZ) podrían sustituir el estímulo de polinización y fecundación necesaria para iniciar y sostener crecimiento de fruto. Mientras, que el tamaño final del fruto puede estar relacionado con la actividad y/o tamaño de la demanda, la cual puede ser aumentada con los reguladores de crecimiento mediante la acumulación de carbohidratos y aumento en el número de células y/o su expansión.

Con base a lo anterior se plantearon los siguientes objetivos: a) Aumentar la productividad de mango cultivar Ataulfo en Nayarit y desarrollar tecnologías de producción eficientes, b) Conocer la relación de los biorreguladores del crecimiento, PBZ y P-Ca, con el periodo en que ocurre el proceso de iniciación y diferenciación floral en yemas de brotes reproductivos, así como en brotación floral, c) Conocer el papel de los biorreguladores de crecimiento, PBZ, P-Ca y AG_3 en la expresión de genes asociados al proceso de floración, d) Evaluar el efecto de biorreguladores del crecimiento TDZ y AG_3 , en amarre y tamaño del fruto de mango 'Ataulfo', e) Conocer la relación entre amarre y tamaño de fruto con tamaño de la demanda y e) Determinar la relación costo/beneficio de las tecnologías generadas y tipificar a productores de mango.

CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

En frutales como mango, el número de flores producidas se establece el año anterior a la producción durante los procesos de inducción, iniciación y diferenciación floral, mientras que el número de frutos dependerá del éxito de los procesos de polinización, fecundación, amarre y crecimiento de fruto.

Inducción, iniciación, diferenciación y brotación Floral

La inducción, primer evento del proceso, es cuando un estímulo ambiental incita a la floración. Este proceso en frutales es totalmente diferente al de las plantas anuales o bianuales como *Arabidopsis thaliana*. En esta especie, se señalan cuatro rutas para la inducción floral donde el fotoperiodo, vernalización y giberelinas (GAs) son factores importantes al igual que la ruta autónoma. Estas rutas estimulan o activan la expresión de genes relacionados con el proceso, incluyendo el gen *FLOWERING LOCUS T (FT)* en hojas y posteriormente su proteína FT que es transportada vía floema al meristemo, donde induce la expresión de los genes de la identidad del meristemo apical y por lo tanto su floración (Boss *et al.*, 2004; Giakountis y Coupland, 2008). La proteína FT, es entonces considerada como el supuesto “Florígeno” mencionado hipotéticamente como el responsable de la floración en muchas especies y se menciona que un mecanismo similar en frutales podría estar involucrado en la inducción floral de los mismos (Brunner y Nilsson, 2004).

En frutales, la inducción floral es afectada por factores exógenos y endógenos, así como hortícolas y hormonales que pueden actuar estimulando o inhibiendo el proceso (Bangerth, 2009). Dentro de los factores exógenos que estimulan el proceso, la duración de la luz o fotoperiodo, tiene un considerable efecto en la inducción floral de plantas anuales (día largo/día corto); no obstante, los frutales no responden al fotoperiodo, aunque la intensidad de luz si tiene un impacto importante en el proceso, de tal manera que el sombreado reduce considerablemente inducción y diferenciación floral (Jackson y Palmer, 1977; Tromp, 1984).

Temperaturas bajas o Vernalización estimulan inducción floración en *Arabidopsis* y otras plantas, al provocar un silenciamiento del gene *FLC*, un represor de inducción floral en esta especie. El silenciamiento es debido a la metilación de la histona de *FLC* lo cual reduce su efecto represivo en genes corriente abajo, permitiendo floración temprana (Bangerth, 2009). Algunos frutales como mango responden a temperaturas bajas para inducir floración, lo que indica que modificaciones en la histona pudieran ser consideradas, aunque a la fecha no se ha elucidado (Chen y Coleman, 2006).

Factores endógenos como excesiva carga de fruto y crecimiento vegetativo inhiben el proceso, mientras que el tipo de portainjerto (vigoroso/débil) así como la distancia de la yema al sitio de captación de la señal (hojas) pueden inhibir o favorecer el proceso. Los factores hortícolas como nutrición balanceada (particularmente nitrógeno), eliminación parcial de frutos jóvenes (aclareo), anillado, doblado de ramas y poda moderada, estimulan el proceso al permitir la accesibilidad del meristemo para captar el mensaje y cambiar de vegetativo a reproductivo. En el caso de factores hormonales, se menciona que GAs y aparentemente el transporte polar de auxinas inhiben el proceso mientras que citocininas y etileno lo favorecen (Bangerth, 2009). Cuando se aplican GAs exógenamente en una etapa fisiológica adecuada, son capaces de mantener la mayoría de las yemas en estado vegetativo (no-accesibles a la inducción); aunque Bangerth (2006) sugiere que el transporte polar de IAA como una señal de larga distancia (LDS) actúa como un mensajero secundario de GAs. En manzano la aplicación de AG₃, AG₄ y AG₇ estimularon el transporte de IAA hacia frutos y yema apical (Callejas y Bangerth, 1997).

En mango durante la fase adulta, la brotación vegetativa ocurre en episodios periódicos en yemas apicales o bien en laterales cuando los brotes han sido podados. Estos episodios son llamados flujos vegetativos llegando a existir varios en un año, y el tipo de crecimiento generado (vegetativo o floral) dependerá en gran medida del estímulo ambiental, principalmente temperatura (Davenport, 2008).

Existen evidencias que bajo condiciones subtropicales, la señal o estímulo para inducción floral son temperaturas bajas de 15/10°C (día/noche) en algunos cultivares, mientras que otros requieren 20/15°C (Whiley *et al.*, 1989; Nuñez-Elisea y Davenport, 1994; Osuna-Enciso *et al.*, 2000). Shu y Sheen, (1987) encontraron que la inducción

floral en 'Haden' fue con temperaturas de 19/13°C y para otros cultivares fue con 30/20°C (Sukhvibul *et al.*, 2000). Contrario a esto, Whiley *et al.* (1989) reportaron una inhibición en inducción floral con temperaturas de 20/15°C en ciertos cultivares. En 'Tommy Atkins' bajo condiciones de Nayarit, el proceso se llevó a cabo con temperaturas diurnas entre 18 y 20°C (Pérez y Vázquez, 2006).

La duración de las temperaturas necesarias para inducción floral varía de cuatro días (Reece *et al.*, 1949) a dos semanas (Shu y Sheen, 1987) en el cultivar Haden y hasta 35 días en 'Tommy Atkins' y Keitt (Yeshitela *et al.*, 2004).

Bajo condiciones tropicales las temperaturas bajas son escasas, erráticas o no existen en algunas temporadas y no está claro cuál es el estímulo para la inducción (Pandey, 1989). Varios autores coinciden que la edad del último flujo de crecimiento vegetativo es el factor dominante que regula la inducción. Los brotes deben estar en ectoletargo durante un tiempo suficiente, normalmente de siete semanas a cinco meses, para ser inducidos a florecer en ausencia de bajas temperaturas (Nuñez-Elisea y Davenport, 1995; Davenport, 2000; Ramírez y Davenport, 2010).

Hay reportes que mencionan que las hojas maduras son capaces de percibir el estímulo ambiental y producir grandes cantidades de "florigeno" bajo condiciones inductivas y transportarlo al meristemo apical desde una distancia de hasta 100 cm en condiciones subtropicales y de 52 en tropicales (Davenport y Ying, 2004; Davenport *et al.*, 2006; Ramírez y Davenport, 2010). El número de hojas necesario para que se realice la translocación ha sido estudiado, encontrando que en ramas donde los brotes tenían cuatro hojas cada uno, fue suficiente para inducir el proceso en 'Tommy Atkins', aunque en 'Keitt' la respuesta fue menor (Ramírez *et al.*, 2010). Se mostró también que la señal para floración puede ser transmitida por injerto (Kulkarni, 1991).

En mango, en el aspecto hormonal, se sabe que GAs inhiben inducción floral promoviendo crecimiento vegetativo a expensa del reproductivo, aunque el efecto dependerá de la etapa fenológica en que se aplica, dosis y cultivar. Nuñez-Elisea y Davenport (1998) señalan que aplicaciones exógenas de GAs pueden regular indirectamente la floración retrasando la brotación de la yema floral cuando ésta se desarrolla bajo condiciones inductivas a floración (temperaturas bajas). Trabajos realizados en México se encontró que 50 mg·L⁻¹ de AG₃ inhibieron floración (76%) en la

época normal en 'Tommy Atkins, y en 'Ataulfo' hasta en un 94% ocasionando una floración retrasada de cuatro y seis semanas, respectivamente (Vázquez y Pérez, 2006; Pérez *et al.*, 2008). Varios autores reportan una baja actividad de GAs en iniciación floral (Chen, 1987; Tongumpai *et al.*, 1991; Pongsomboon *et al.*, 1997;).

Por otro lado, cuando el meristemo llega a la fase adulto reproductivo, está comprometido y determinado para florecer. En esta fase, iniciación floral; es decir, la transición de vegetativo a reproductivo, está dada por el alargamiento del eje central o raquis y la presencia de meristemos de ejes secundarios en las axilas de primordios foliares. Esta es la primera evidencia del proceso de diferenciación floral en mango y se presenta primero en los meristemos axilares más distantes del ápice (Scholefield *et al.*, 1986; Osuna-Enciso *et al.*, 2000; Pérez *et al.*, 2009).

Por lo tanto, diferenciación floral es el proceso en el cual ocurre la formación de primordios florales en un meristemo reproductivo que ha sido iniciado. En el caso de inflorescencias, la formación de las partes de la flor ocurre después que se han formado los ejes secundarios y terciarios.

El proceso comprende cambios morfológicos en la estructura del ápice para formar las distintas partes de la flor (Osuna-Enciso *et al.*, 2000). En mango, Davenport (2008) menciona que este proceso ocurre normalmente a finales de otoño y principios de invierno. En 'Manila', se presentó en la primer quincena de febrero y concluyó de cuatro a seis semanas después (Osuna-Enciso *et al.*, 2000), mientras que en brotes de seis meses de edad de 'Tommy Atkins' el proceso inició a mediados de noviembre y terminó a finales de diciembre con una duración de seis semanas (Pérez *et al.*, 2009).

Una vez terminado el proceso de diferenciación, las inflorescencias emergen de la yema apical o lateral desarrollando continuamente hasta que ocurre la antesis a finales de invierno o principios de primavera (Wilkie *et al.*, 2008).

Por otro lado, existen prácticas de manejo que reducen el crecimiento vegetativo y favorecen brotación floral. Muchos de ellos actúan inhibiendo la biosíntesis de GAs. Hay diferentes tipos de productos que actúan como inhibidores: a) los que bloquean la síntesis de ciclasas copalil-difosfato y Ent-Kaureno en la primera etapa de la ruta del metabolismo de giberelinas como el Cloromequat; b) los triazoles como paclobutrazol (PBZ) y uniconazol que bloquean monooxigenasas inhibiendo la oxidación de ent-

kaureno a ácido ent-kaurenoico y c) compuestos con una estructura parecida al ácido 2-oxoglutarico como prohexadiona de calcio (P-Ca) que bloquea particularmente 3 β -hidroxilación inhibiendo la formación de giberelinas activas formando precursores inactivos (Rademacher *et al.*, 1998; Rademacher, 2000).

PBZ puede afectar también a otras hormonas reduciendo el nivel de ácido abscísico, etileno y ácido indolacético, y aumentando el de citocininas (Berova y Zlatev, 2000; Cárdenas y Rojas, 2003). Resultados positivos en floración con la aplicación de PBZ se han obtenido en diversos cultivares como Tommy Atkins (Cárdenas y Rojas, 2003; Rodríguez *et al.*, 2007), Kensington Pride (Winston, 1992; Blaikie y Kulkarni, 2002), Dashehri (Singh y Bhattacharjee, 2005) y Keitt (Yeshitela *et al.*, 2004). En México se han encontrado resultados efectivos en 'Manila' (Rebolledo *et al.*, 2008; Pérez *et al.*, 2011), 'Ataulfo' (Vázquez *et al.*, 2009) y 'Tommy Atkins' (Medina-Urrutia, 1995).

P-Ca ha sido estudiada especialmente en especies templadas. En manzano se han obtenido resultados positivos en reducir la longitud de brotes e incrementar la producción de fruta (Ramírez *et al.*, 2006; Cline *et al.*, 2008; Kiessling-Dvison *et al.*, 2008). Resultados similares fueron encontrados en pera 'Blanquilla' aunque mencionan que la reducción en el crecimiento fue mejor con PBZ (Asin *et al.*, 2007). En frutales subtropicales Garner *et al.* (2010) obtuvieron una disminución en la longitud de brotes (30%) de limón 'Eureka' con la aplicación de 250 mg·L⁻¹ de P-Ca así como en Aguacate 'Hass'; pero, las mismas dosis no tuvieron efecto en naranjo 'Navel'. En tropicales como mango hay escasos estudios realizados con P-Ca para disminuir crecimiento vegetativo y favorecer floración; sin embargo los resultados no han sido prometedores (Mouco *et al.*, 2010; Abdel *et al.*, 2011).

De los estudios anteriores, se sabe que un estímulo o señal dispara un promotor "florigeno" que se transporta de las hojas al meristemo apical vía floema; en *Arabidopsis* se ha identificado a la proteína FT como la responsable de la inducción floral y se cree que en frutales como mango pudiera ser también el promotor floral tan buscado. No obstante, en México, se desconoce la identidad del florigero y hay poca información de la regulación interna de este proceso desde el punto de vista molecular, por lo que es necesario elucidar los mecanismos de este proceso desde este punto de

vista para un mejor entendimiento y control del mismo. Numerosos estudios coinciden en que la inducción floral en mango es estimulada por temperaturas bajas en condiciones subtropicales, mientras que en tropicales la edad de los brotes y un periodo de ectoletargo son determinantes para la inducción. Además, existen estudios sobre el periodo en que ocurre la diferenciación floral y los numerosos factores que la afectan.

Por otro lado, los estudios en *Arabidopsis* indican que GAs es una de las rutas que inducen el proceso de floración en esta especie, pero en frutales se menciona que lo inhiben. Específicamente en mango los estudios reportados, han mostrado que GAs no inhiben pero si retrasan el proceso; no obstante, hacen falta estudios para elucidar el efecto fisiológico y molecular y entender la relación entre las GAs y el proceso de floración.

En varias especies tropicales se conoce el efecto en el crecimiento vegetativo y floración de inhibidores de síntesis de GAs como PBZ, pero los estudios con P-Ca han sido enfocados en su mayoría a frutales templados y existe poca o nula información de su efecto en mango. Además, el efecto fisiológico y anatómico de estos reguladores en el proceso de inducción, iniciación y diferenciación floral del mango es aún desconocido.

Genes relacionados con el proceso de floración

En respuesta al ambiente y a señales endógenas, las plantas cambian de crecimiento vegetativo a reproductivo. Los meristemos adultos son competentes porque ya pueden producir estructuras reproductivas, pero la respuesta real dependerá del estímulo ambiental. Este proceso lo controlan un grupo grande de genes llamados “genes de tiempo de floración” principalmente el gen *FLOWERING LOCUS T (FT)*. Después de ser competente, un meristemo debe ser activado y comprometido para florecer, la reversión a juvenilidad ya no es generalmente posible; es decir, el meristemo está determinado. En esta fase, señales de varias rutas del tiempo de floración se integran y conducen a la activación de un grupo pequeños de genes

llamados “genes de identidad del meristemo” que especifican la identidad floral como *APETALA1* y *LEAFY*, aunque existen otros como *CAULIFLOWER*, *FRUITFULL* y *AP2*.

Los genes de identidad del meristemo activan los “genes de identidad de los órganos florales” en regiones discretas de la flor y estos últimos activan corriente abajo “genes de construcción de órganos”, (Modelo A, B, C y E en *Arabidopsis*) los cuales, especifican los diferentes tipos de células y tejidos que constituyen los cuatro órganos florales (Krizek y Meyerowitz, 1996; Ruiz-García *et al.*, 1997; Ditta *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2009).

Actualmente, la identificación, cuantificación y expresión de genes relacionados con floración constituye una herramienta importante para entender el proceso.

Arabidopsis, una planta modelo ampliamente usada para estudios de biología molecular y genéticos de la floración, es particularmente útil porque se ha secuenciado el genoma completo (Wilkie *et al.*, 2008). En esta especie, se han identificado cuatro rutas que permiten la floración y su relación a nivel genético ha sido muy estudiada. En la ruta del fotoperiodo, bajo condiciones de día largo (DL), fotorreceptores estabilizan la proteína CO permitiendo la regulación de *FT*. *CO* y *FT* son expresadas específicamente en el tejido vascular de la hoja, el transcripto *FT* se traduce en la proteína FT, la cual es transportada vía floema a los meristemos (Corbesier *et al.*, 2007). En el meristemo, FT forma una proteína compleja con FD, un factor de transcripción expresado preferentemente en el ápice del brote, para interactuar con los genes de la identidad del meristemo *APETALA 1* (*AP1*) (Abe *et al.*, 2005).

La ruta de las giberelinas promueve activamente la floración, bajo condiciones de día corto, *AG₄* la cual es probablemente producida en las hojas y transportada al meristemo, regula los genes de la identidad del meristemo floral *LEAFY* (Blazquez, 2005; Eriksson *et al.*, 2006) y *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANTS 1* (*SOC1*) un integrador floral, provocando la floración (Bernier y Perilleux, 2005). La ruta de la vernalización (temperaturas frías), *VIN3* (*VERNALIZATION INSENSITIVE 3*) y *VRN1* (*VERNALIZATION 1, 2*) suprimen *FLC* (*FLOWERING LOCUS C*), un represor floral; mientras que *FRI* (*FRIGIDA*) promueve su acción. También hay una represión directa de *FLC* por la ruta autónoma.

Por otro lado, las diferentes partes de la estructura de la flor están dispuestas en círculos individuales alrededor del meristemo, llamados verticilos florales. En *Arabidopsis*, surge el modelo ABC para la construcción de los órganos florales, elucidando como la planta controla cuales órganos se desarrollan en cada verticilo. Los genes A (*APETALA1*, *APETALA2* y *LEUNIG*) controlan sépalos y pétalos en el verticilo 1 y 2, B (*APETALA3* y *PISTILLATA*) junto con A controlan pétalos. Genes B y C (*AGAMOUS*) producen estambres en verticilo 3 y C produce carpelo en el verticilo 4 (Krizek y Meyerowitz, 1996; Pelaz *et al.*, 2000; Blazquez *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2009). Posteriormente, se caracterizaron los genes *SEP* (*SEPALLATA 1, 2, 3 y 4*) o clase E requeridos también para producir pétalos, estambre y carpelo (Pelaz *et al.*, 2000; Honma y Goto, 2001; Ditta *et al.*, 2004)

Los estudios realizados en *Arabidopsis* han servido como base para estudios moleculares en frutales. En manzano 'Jonathan' Kotoda *et al.* (2000) caracterizaron los genes *AFL* y *MdAP1* en el proceso de iniciación floral. Posteriormente en 'Pinova' los genes *MdFT* y *AFL1* expresados en meristemos reproductivos marcaron el inicio de la inducción floral y la expresión de *MdSOC1*, *MdTFL1-1* y *MdTFL1-2* durante la iniciación floral (Hattasch *et al.*, 2008). Mimida *et al.* (2011) mostraron que *AFL2*, *MdFT* y *MdAP1* tienen un papel en la transición del meristemo vegetativo a reproductivo después que la expresión de *MdTFL1* disminuye y posteriormente *AFL2* y *MdAP1* promueven la formación de primordios y órganos florales. Kotoda *et al.* (2010) sugieren que *MdFT1* podría funcionar como promotor de la floración. En manzano 'Fuji', entre 20 y 60 días después de floración, la expresión de *MdFTL1* en yemas apicales fue alta en árboles con alta producción; por el contrario, la expresión de *MdFT1* no mostró diferencias con alta o baja producción (Kittikorn *et al.*, 2011).

En vid 'Tempranillo', se mostró la expresión de *VvFT* y *VvMFT* como promotores de la floración, mientras que *VvTFL1A*, *VvFTL1B* y *VvMFTL1C* pudieran estar asociados con el crecimiento vegetativo y la indeterminación del meristemo (Carmona *et al.*, 2007). Poco después, en el cultivar Xiangfei los genes *VFL* y *VAP1* se detectaron en inflorescencias y flores en desarrollo y la expresión de *VvAG1* y *VvSEP3* se observó en la región de la placenta de óvulos en la etapa final del desarrollo de la flor (Yao *et al.*, 2012).

En tropicales, los estudios generalmente incluyen una relación de la expresión del gene con la iniciación y desarrollo floral, ambiente y manejo. En mandarina 'Satsuma' los niveles del gene ortólogo *FT* incrementaron con temperaturas frías durante el tiempo de inducción floral (Nishikawa *et al.*, 2007) y en naranjo dulce hay evidencias que los niveles de ortólogos *LFY* y *AP1* se incrementan durante y después de la inducción floral con temperaturas frías (Pillitteri *et al.*, 2004). En el híbrido transgénico de cítrico (*Citrus sinensis* L. Osbeck x *Poncirus trifoliata* L. Raf) una sobreexpresión de *LFY* y *AP1* redujeron sustancialmente la fase juvenil, aunque la floración al parecer dependió del control ambiental (Peña *et al.*, 2001). En *Poncirus trifoliata* la expresión de *FT* le confiere la floración temprana (Endo *et al.*, 2005). Mientras que en mandarina 'Moncada' *FT* es inhibido por la carga de fruta. En árboles de naranjo dulce 'Salustiana', se observó que las giberelinas inhibieron floración al reprimir la expresión de los genes homólogos *FLOWERING LOCUS T*, *CiFT*, en hojas; mientras que PBZ incrementó la floración estimulando su expresión. La actividad de los homólogos *TERMINAL FLOWER 1*, *FLOWERING LOCUS C*, *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1*, y *APETALA 1* no fueron afectados por los biorreguladores (Muñoz-Fambuena *et al.*, 2012).

En mango hay poca información al respecto, recientemente, un gene como el *FLOWERING LOCUS T* (*FT*) fue identificado y caracterizado. La secuencia de *MiFT* mostró una alta identidad al gene *FT* de otras plantas y su expresión incrementó en hojas bajo condiciones inductivas de floración (temperaturas bajas) y en árboles con baja producción de fruta. La aplicación de 250 mg·L⁻¹ de AG₃ inhibió completamente la floración y la expresión de *MiFT* tanto en alta como en baja producción. En este estudio concluyen que *MiFT* es el factor clave en la floración del mango (Nakagawa *et al.*, 2012)

De acuerdo a lo anterior, genes relacionados con el proceso de floración en plantas herbáceas como *Arabidopsis*, han servido como base para realizar estudios en frutales. En especies de clima templado han sido identificados los genes involucrados tanto en iniciación floral como en el desarrollo de órganos florales. En subtropicales y tropicales existen trabajos al respecto en cítricos pero en mango la información es muy escasa, y nula en mango 'Ataulfo'. En esta especie de importancia nacional es urgente

realizar estudios a nivel molecular para tratar de contrarrestar los efectos del clima en la inducción, diferenciación y brotación floral.

Polinización y fecundación

Polinización es el proceso de transferencia del grano de polen al estigma de la flor, mientras que fecundación es el proceso mediante la cual el grano de polen germina en el estigma, desarrolla el tubo polínico y se fusiona con el óvulo. Este último proceso se considera un evento estimulante en el amarre de frutos; en esta fase se inicia desarrollo de semillas, se producen hormonas y se atraen metabolitos y nutrientes. En algunas especies, la transferencia del polen depende en parte o totalmente de la acción de vectores como el viento y los insectos. En general, en frutales la polinización cruzada puede ser un prerrequisito para la fecundación (Peña, 2003). La hipótesis más común es que el mango es polinizado por insectos. Sung *et al.* (2006) registraron 126 insectos diferentes como visitantes o polinizadores en mango. La mayoría pertenecían al orden Díptera e Himenóptera y los mejores polinizadores fueron abejas (*Apis cerana* and *A. mellifera*) y la mosca doméstica. Por otro lado, los resultados de Carvalheiro *et al.* (2012) mostraron que la presencia de pequeñas áreas con flores nativas cercanas a huertos de mango y un uso moderado de insecticidas incrementó la producción, debido a una mejor polinización por insectos.

Por otro lado, el árbol del mango es una planta monoica pero polígama, presentando flores masculinas y hermafroditas en la misma planta. Las flores nacen en una inflorescencia piramidal que normalmente se desarrolla de una yema terminal (Galán-Sauco, 1999; Mukherjee, 2009). Se ha observado que su distribución o posición en la inflorescencia depende del cultivar. El número de flores en una inflorescencia varía de 1000 a 6000 flores de acuerdo al cultivar y orientación en el árbol, 'Tommy Atkins' mostró mayor número de flores por inflorescencia que Kent y Keitt (Abourayya *et al.*, 2011) y el cultivar Langra tuvo mayor número de flores hermafroditas en el lado oeste y sureste del árbol que 'Anwar Ratual' (Asif *et al.*, 2002). Las flores son de tamaño pequeñas entre 5-10 mm y el número de las masculinas en la inflorescencia es mayor que el de las hermafroditas, aunque la cantidad de las mismas está influenciado

por ambiente principalmente temperatura (Galán-Sauco, 1999; Tharanathan, *et al.*, 2006; Mukherjee, 2009; Ding y Darduri, 2013).

Las flores tienen de cuatro a cinco estambres, solamente uno o dos de ellos son fértiles, el resto son estaminoides estériles con filamentos pequeños muy cercanos al nectario (Mukherjee, 2009). Estudios realizados en el cultivar Chok Anan, mostraron que las flores hermafroditas tenían estilos más largos que el filamento de los estambres indicando cierto grado de autoincompatibilidad, requiriendo de polinización cruzada (Ding y Darduri, 2013).

La flor abre en la madrugada, con el estigma inmediatamente receptivo, la máxima apertura es entre 11 y 12 horas de la mañana y el polen se libera desde las 8 a. m. hasta el mediodía (Gehrke, 2008). Contrario a esto, Medeiros *et al.* (2008) señalan que las flores de mango presentan dicogamia, debido a que la dehiscencia de antera ocurre 24 horas después de anthesis.

El grano de polen puede ser binucleado o trinucleado, en este último un núcleo pierde viabilidad rápidamente. La viabilidad difiere entre variedades, Khan y Perveen (2009) señalan que el polen de los cultivares Langra, Chaunsa y Dasherri tuvo buena viabilidad con porcentajes de germinación arriba del 70% cuando se almacenó a -30°C durante cuatro semanas. En 'Ataulfo', Gehrke *et al.* (2011) mencionan una viabilidad entre 70 – 85% y un porcentaje de germinación de 14.5 y 1.75 en flores hermafroditas y masculinas, respectivamente.

Polinización es afectada por factores internos y externos. Entre los internos destaca la presencia de flores imperfectas (un solo sexo, bien sea masculina o femenina), heterostilia; es decir, flores con estigma largo y estambres cortos o viceversa, periodo de polinización efectiva, baja viabilidad del grano de polen e incompatibilidad; mientras que en los externos temperatura, viento, lluvia y presencia de polinizadores son importantes (Wani *et al.*, 2010).

En 'Ataulfo' se observó una tasa de crecimiento del tubo polínico alta ($58 \mu\text{m h}^{-1}$) y disminuyó 12 horas después de la germinación hasta $12.8 \mu\text{m h}^{-1}$, lo que indicó la posibilidad de que el crecimiento está restringido por algún factor ambiental o fisiológico causando fecundación deficiente y/o aborto de embrión (Gehrke *et al.*, 2011). Rani *et al.* (2013) mostraron que la presencia de anteras con lóbulos fusionados y estigmas

encorvados con poca receptividad, fueron los factores responsables de restringir la germinación del grano de polen y el crecimiento del tubo polínico en mango 'Baramasi'.

Uno de los factores que mayor influencia tiene en la polinización y fecundación es la temperatura, afectando diversas fases del desarrollo productivo de las plantas desde post-polinización (desarrollo de órganos reproductivos), fase progámica (de polinización a fecundación) y durante el desarrollo del embrión. El estrés por temperatura puede conducir a un desarrollo asincrónico del polen-pistilo-óvulo reduciendo la fecundación. No obstante, aunque haya una fecundación exitosa, no garantiza un buen amarre de frutos si el estrés por temperatura persiste impidiendo el desarrollo del embrión (Hedhly, 2011).

En tres cultivares de mango, temperaturas bajas (20/10°C; día/noche) disminuyeron el porcentaje de flores hermafroditas en cultivares poliembriónicos pero lo incrementaron en monoembriónicos. 'Kensington' produjo flores con estilos cortos (0.62 mm) y estigmas pequeños con poca superficie, 'Nam Dok Mai' e 'Irwin' produjeron flores con ovarios deformes o fusionados. Estas anomalías ocasionadas por bajas temperaturas, contribuyeron a un bajo amarre de frutos en áreas subtropicales (Sukhvibul *et al.*, 1999; Sukhvibul *et al.*, 2000).

En mango 'Kent', Dag *et al.* (2000) reportan una polinización deficiente al inicio del periodo de floración con temperaturas (20/10-15°C; día/noche) que afectan el desarrollo de los órganos reproductivos, al final del periodo la polinización mejoró al presentarse temperaturas entre 25/15°C (día/noche). Un mayor número de granos de polen germinados en la superficie del estigma fue encontrado cuando los árboles de 'Haden' desarrollaron bajo temperaturas diurnas entre 25-30°C, incrementando la polinización con la aplicación de boro en antesis (Wet *et al.*, 1989)

La exposición a temperaturas bajas (20/10°C; día/noche) tres días después de la polinización manual provocó aborto de embrión e incrementó el porcentaje de frutos stenospermocárpicos (nubbin) en los cultivares 'Irwin', 'Kensington' y 'Nam Dok Mai' (Sukhvibul *et al.*, 2005).

Amarre y crecimiento de frutos

Amarre se considera una fase inductiva que inicia con la polinización de la flor y culmina con la iniciación del crecimiento del ovario y su permanencia en la planta.

El crecimiento de fruto en mango presenta tres etapas importantes. Etapa I, de 0-14 días después de floración (DDF) es caracterizada por un crecimiento lento (Ram, 1992) pero activa división celular en el pericarpio, después de polinización y fecundación. ETAPA II, de 14-42 días, ocurre un crecimiento rápido, hay expansión celular y se inicia el desarrollo de la semilla. En la Etapa III de 42 a 77 días, el fruto crece por un aumento acelerado en el tamaño de las células (expansión celular) hasta alcanzar su tamaño final. En esta etapa el embrión alcanza la fase de torpedo e inicia su maduración hasta alcanzar su madurez justo cuando el fruto llega a su máximo crecimiento (madurez fisiológica) (Varoquaux *et al.*, 2000).

Dentro de los factores involucrados en amarre y crecimiento del fruto, polinización y fecundación, como se mencionó anteriormente, tienen un papel importante así como hormonas y nutrición.

En especies como *Arabidopsis*, auxinas pueden actuar como señales antes de la fecundación, dando lugar a una fecundación exitosa y estimulando biosíntesis de GAs en semilla que dispara el desarrollo de fruto, lo que sugiere interrelación entre estas hormonas (Ozga and Reinecke, 2003; Dorcey *et al.*, 2009). También se menciona que GAs producidas por el polen, incrementan la producción de auxinas en el ovario, sirviendo como una señal para el amarre del fruto y promover la división celular (Gillaspy *et al.*, 1993).

Algunos estudios muestran que citocininas regulan división celular por lo que es posible su asociación con el crecimiento del fruto, aumentando el número de células. En tomate se ha encontrado una correlación entre el contenido de éstas y la división celular (Srivastava y Handa, 2005; Matsuo *et al.*, 2012). También se ha encontrado una alta concentración de citocininas en semillas en desarrollo de tomate, sugiriendo que tienen un papel importante en el desarrollo embrión/semilla y crecimiento del fruto (Pandolfini, 2009).

En mango, se mencionan diferentes factores relacionados con amarre y desarrollo de fruto. La mayoría de los frutillos caen durante la primera semana después de floración y se atribuye a fallas en los procesos de polinización-fecundación. En el segundo flujo de caída, las hormonas tienen un papel importante debido a deficiencia de citocininas y niveles altos de inhibidores que aparentemente coincide con fallas en el desarrollo del embrión, (28-35 DDF). No obstante, existen reportes contradictorios respecto al contenido de hormonas durante el crecimiento (Ram, 1992; Jun-hu *et al.*, 2013). El tercer flujo, después de los 42 DDF, se atribuye a nutrición y fotosíntesis (Ram, 1992; Singh *et al.*, 2005) y aunque el número de frutos es menor, el costo es alto.

Durante el desarrollo, los frutos acumulan carbohidratos generalmente como almidón, o azúcares como sacarosa, glucosa y fructosa. Los frutos en desarrollo atraen fotosintatos, si el número de ellos aumenta, incrementa la fuerza de la demanda, lo que acrecienta la capacidad fotosintéticas de las hojas maduras cercanas al fruto; contrario a esto, un número reducido de frutos ocasiona la acumulación de fotosintatos en hojas al reducir la fuerza de la demanda, lo que disminuye la actividad fotosintética de las hojas maduras (Hansen, 1982; Urban *et al.*, 2003; 2004; Fisher *et al.*, 2012). Simao *et al.* (2008) señalan que el contenido de almidón en un fruto inmaduro es aproximadamente 70% y se convierten en azúcares solubles durante su maduración.

Por otro lado, se menciona que un déficit de agua durante las primeras cuatro o seis semanas después de antesis, afecta su retención en el árbol (Whiley y Schaffer 1997). Al parecer el estrés de agua está asociado con acumulación de ácido abscísico (ABA) ocasionando la caída (Nakano *et al.*, 2002)

Uno de los aspectos más estudiados ha sido el uso de biorreguladores del crecimiento exógeno para incrementar el amarre y tamaño de frutos. Varios trabajos con GAs han mostrado un efecto positivo en el amarre de fruto de mango. En 'Kensington Pride', AG₁₃ asperjado antes de plena floración fue efectiva para amarre inicial pero AG₄ (10 ppm) fue mejor en el amarre final de acuerdo con Singh (2009), el autor concluye que la aplicación de GAs es importante para asegurar amarre de fruto en lugares con temperaturas bajas durante floración. Por su parte, Chutichudet *et al.* (2006) encontraron un incremento en amarre de fruto en mango 'Srisaket 007' con la

aplicación de 50 ppm de AG₃ en Etapa I. Resultados similares con la aplicación de giberelinas se obtuvieron en mango 'Irwin', mejorando el amarre de frutos partenocárpicos (Ogata *et al.*, 2010).

La aplicación de hormonas en Etapa 1, ha resultado efectiva para incrementar el tamaño del mismo al estimular la división y elongación celular en especies como cereza (Stern *et al.*, 2007), vid (Vasconcelos-Botelho *et al.*, 2003), pera (Stern y Flaishman, 2003) y arándano (NeSmith, 2002). En mango, el crecimiento de fruto se logró al aplicar AG₃ en el cultivar Srisaket 007 (Chutichudet *et al.*, 2006) y en frutos partenocárpicos de 'Irwin' (Ogata *et al.*, 2010).

Importancia del cultivo, rentabilidad y tipología de productores

Dentro de las frutas tropicales el cultivo del mango es uno de los más importantes en el ámbito mundial, nacional y estatal. En México se cultiva una superficie de más de 187 mil ha con una producción de 1.6 millones de toneladas. Se produce en 23 estados y los de mayor superficie son Sinaloa, Chiapas y Nayarit con más de 25 mil ha, Guerrero y Michoacán cuentan con 23 y 25 mil, respectivamente, mientras que Oaxaca y Veracruz tienen una superficie entre 18 y 19 mil ha, respectivamente (SIACON-SAGARPA, 2013). Respecto al volumen de producción, 10 de los 23 estados contribuyen al 98% del total de la producción nacional de mango. El estado de Guerrero destaca como principal productor aportando 24.1% del volumen total, seguido de Nayarit con un 18.3% y Sinaloa con 16%, tan sólo estos tres estados participan con el 57% del total de la producción nacional mientras que el 43% restante se produce en Chiapas, Oaxaca, Michoacán, Veracruz, Jalisco, Colima y Campeche, entre otros.

En Nayarit, la superficie establecida supera las 25 mil ha con una producción de 267 mil toneladas (SAGARPA, 2013). Actualmente, la exportación de este fruto está basada principalmente en los cultivares Ataulfo, Tommy Atkins, Kent y Keitt. Nayarit tiene una importancia absoluta respecto a otros estados productores como Chiapas, Sinaloa y Michoacán. Lo anterior, debido a un mayor rendimiento por ha (11-12 ton) lo que significa una producción de casi 267 mil ton y un valor de la producción de más de

556 millones de pesos. Aun cuando Chiapas y Sinaloa tienen una superficie similar a Nayarit, el rendimiento por ha es apenas de 5 (Chiapas) y 8 (Sinaloa) ton con un volumen de producción alrededor de 143 y 235 mil ton, respectivamente; mientras que Michoacán con una superficie de 25 mil ha, produce poco más de 135 mil ton con un promedio de 6.6 ton/ha. Por otro lado, el costo de producción por ha (5-10 mil pesos) en Nayarit es menos de la mitad de lo que un productor invierte en Michoacán (15-20 mil pesos).

La importancia relativa radica en los recursos naturales que favorecen a Nayarit (agua, suelo) que le permite mayor rendimiento a un menor costo que Michoacán. No obstante, Chiapas y Michoacán tienen una ventaja comparativa con Nayarit al entrar primero al mercado y obtener los mejores precios por ton de fruta producida.

Por otro lado, una tipografía es el agrupamiento de productores, fincas o explotaciones que presentan ciertas características similares. Se le podría definir como una herramienta metodológica. Mediante la tipificación, es posible conocer las dinámicas del desarrollo agrario, facilitar la definición de políticas de investigación y transferencia de tecnología, facilitar la gestión de productos pero sobre todo identificar y conocer las unidades de producción (López-Roldan, 1996).

La tipología de productores realizada en un sistema familiar retomó dos perspectivas teóricas: la económica y la sociológica. El mayor número de variables fueron económicas porque de acuerdo con algunos autores “muestran mayor variación que los factores socioculturales”, aunque también se utilizan variables sociales (Köbrich *et al.*, 2003; Bidogez *et al.*, 2009). Otros consideran factores externos a la unidad productiva del orden natural, espacial y económico, como es el impacto de la nueva ocupación del productor en la producción agrícola y el impacto del factor espacial en la decisión de los productores de diversificar su ocupación (McElwee y Bosworth, 2010).

En México existen trabajos de tipificación en nuez pecanera (*Carya illinoensis* Koch.) donde identificaron diferencias en producción entre ejido y pequeña propiedad, utilizando variables socioeconómicas (Orona *et al.*, 2006). En nogal de castilla se identificaron tres tipos de unidades de producción (UP). Las variables culturales contribuyeron a entender la lógica de funcionamiento del cultivo. Se concluyó que

variables del factor espacial, como las relaciones de mercado, diferencian UP de nuez de Castilla en la región Sierra Nevada de Puebla (Luna-Méndez *et al.*, 2013).

En Texcoco se usó una tipificación de productores agropecuarios para diseñar las políticas de desarrollo rural territorial. Los resultados arrojaron cuatro tipos de productores. 1) campesino pluriactivo, 2) el agrícola familiar de subsistencia, 3) el agropecuario orientado al mercado con bajo nivel de capitalización y 4) el agropecuario intensivo, que se basa en superficie de riego y en el uso intensivo de mano de obra externa, no tiene ingresos por actividades no agropecuarias (Santos-Chávez, 2003).

Respecto a rentabilidad, es un término que mide la ganancia que se obtiene en una situación particular. Se dice que es el denominador común en todas las actividades productivas, y para definir el concepto es necesario conocer los parámetros adecuados. En el caso de un cultivo agrícola; los costos de producción, rendimiento por unidad de superficie y el valor de la producción, son importantes porque conducen a obtener una relación beneficio/costo que determina la rentabilidad de ese cultivo. Una definición más precisa es que es un índice que mide la relación entre la utilidad o ganancia obtenida, y la inversión o recursos que se utilizaron para obtenerla (FIRA, 2011).

Bajo este contexto, se han realizado varios estudios para conocer la rentabilidad de cultivos agrícolas, bien sea anuales y/o perennes incluyendo frutales. En tomate rojo, Hernández-Martínez *et al.* (2004) comentan que las tendencias de los indicadores de competitividad y ventajas comparativas, indicaron que esta hortaliza es una alternativa productiva en Sinaloa. El aumento de la productividad, reflejado en el incremento del rendimiento por hectárea y el manejo eficiente e intensivo de insumos comerciables, contribuyeron favorablemente al mantenimiento de esta tendencia. Mientras que en el estado de Hidalgo, utilizando la relación beneficio/costo (B/C) como indicador de rentabilidad, concluyen que la producción de jitomate resultó ser una actividad rentable en la región de estudio con una relación B/C de 2.30 (Terrones y Sánchez, 2011)

Por su parte, Ayala-Garay *et al.* (2014) determinaron en amaranto que el rendimiento podría aumentarse, si los productores contaran con un paquete tecnológico adecuado que permita reducir costos de producción y aumentar sus ganancias.

Recomiendan, además, apoyar el desarrollo tecnológico para que se traduzca en una mayor rentabilidad y así garantizar su continuidad en la región centro de Puebla.

Con respecto a frutales, en el cultivo de litchi se aplicaron cuestionarios para determinar la rentabilidad en dos unidades de producción. Derivado de los altos rendimientos por árbol, el periodo de cosecha y el precio de venta obtenido, el estudio mostró una relación Beneficio/Costo mayor a 1, indicando que el cultivo fue rentable. Lo anterior, provocó que el cultivo del café fuera desplazado por completo, mientras que naranja y plátano fueron desplazados de manera gradual (Carrillo-Ángeles *et al.*, 2010). En naranja 'Valencia' se obtuvo una utilidad neta de \$15.800.000 por ha y una relación Beneficio/Costo (B/C) de 3.23, mientras que para la lima Tahití fue de 2.03, 1.36 para el tangelo Minneola y 1.11 en mandarina Arrayana (Mateus *et al.*, 2010).

En papaya se realizó un análisis para productores que utilizan baja, media y alta tecnología. Los resultados mostraron que la aplicación de tecnología baja parece ser rentable para los productores quienes en su mayoría poseen entre 1 y 4 hectáreas. Mientras que la tecnología media fue rentable para los productores quienes en su mayoría tenían terrenos cultivados entre 5 y 10 hectáreas, aplicando buenas prácticas de cultivo que les permitió producir con mayor rendimiento y productividad, al igual que los de alta tecnología, la cual fue considerablemente rentable para los productores que cultivan más de 10 hectáreas (Guzmán *et al.*, 2009).

CAPÍTULO III. BIORREGULADORES DE CRECIMIENTO EN INICIACIÓN, DIFERENCIACIÓN Y GENES DEL PROCESO DE FLORACIÓN

Introducción

En frutales, el número de flores producidas se establece el año anterior a la producción durante los procesos de inducción, iniciación y diferenciación floral. Inducción es cuando un estímulo ambiental, normalmente temperatura o fotoperiodo, incita a la floración (Kinet, 1993) y es afectada por factores exógenos, endógenos, hortícolas y hormonales (Wilkie *et al.*, 2008; Bangerth, 2009). En mango, numerosos estudios coinciden en que la inducción floral (IF) es estimulada por temperaturas bajas en condiciones subtropicales. Algunos cultivares como Kensington, Nam Dok Mai, Alphonso, Irwin, Haden, Keitt y Tommy Atkins, demandan temperaturas bajas de 15/10°C (día/noche) (Nuñez-Elisea y Davenport; 1994; Yeshitela *et al.*, 2004; Whiley y Schaffer, 2009) mientras que otros como 'Carabao', 'Dashehari' y 'Manilla' requieren 20/15°C (Osuna-Enciso *et al.*, 2000; Yeshitela *et al.*, 2004).

Contrario a esto, Whiley y Schaffer (2009) reportaron una inhibición en IF con temperaturas de 20/15°C en ciertos cultivares. Bajo condiciones tropicales, aparentemente la edad del último flujo de crecimiento vegetativo es el factor dominante que regula IF. Los brotes deben estar en ectoletargo durante un tiempo suficiente, normalmente de siete semanas a cinco meses, para ser inducidos a florecer en ausencia de temperaturas bajas (Nuñez-Elisea y Davenport, 1995; Davenport, 2000; Davenport, 2007; Ramírez y Davenport; 2010). Aunque en 'Tommy Atkins', bajo ambiente tropical, IF sucedió con temperaturas diurnas entre 18 – 20°C (Pérez y Vázquez, 2006). En frutales como cereza 'Hongdeng' y 'Van', la IF fue retrasada por la presencia de altas temperaturas y abundante lluvia en un clima subtropical (Li *et al.*, 2010).

Después de la inducción, el meristemo es iniciado para el proceso de diferenciación floral (DF). Este proceso comprende cambios morfológicos en la estructura del ápice para formar las distintas partes de la flor. En mango, el inicio de DF se caracterizó por un ligero alargamiento del eje principal y formación de

protuberancias meristemáticas en las axilas de los primordios foliares y se han definido cuatro estadios importantes de DF, donde el último se caracteriza por alargamiento de ejes terciarios de la inflorescencia, la formación de meristemas reproductivos, así como el desarrollo de primordios florales, sépalos, pétalos y estambres. (Ravishankar *et al.*, 1979; Osuna-Enciso *et al.*, 2000; Pérez *et al.*, 2009; Palanichamy *et al.*, 2012)

La duración y época en que ocurre DF varía entre especies, cultivares, ambiente y manejo del cultivo. En mango, Davenport (2007) menciona que DF ocurre normalmente a finales de otoño y principios de invierno, con una duración entre cuatro y seis semanas dependiendo del cultivar (Ravishankar *et al.*, 1979; Osuna-Enciso *et al.*, 2000; Pérez *et al.*, 2009; Palanichamy *et al.*, 2012). El inicio de DF puede ocurrir en octubre ('Amatrapali', 'Mallika', 'Alphonso' 'Totapuri'), noviembre ('Tommy Atkins') o febrero ('Manila') y termina en noviembre, diciembre y marzo, en los mismos cultivares, respectivamente (Ravishankar *et al.*, 1979; Osuna-Enciso *et al.*, 2000; Pérez *et al.*, 2009; Palanichamy *et al.*, 2012).

En el aspecto hormonal, se sabe que GAs inhiben DF promoviendo crecimiento vegetativo a expensas del reproductivo, aunque el efecto dependerá de la etapa fenológica en que se aplica, dosis y cultivar. Davenport (2007) menciona que GAs pudieran ser el promotor vegetativo que induce crecimiento vegetativo. Por otra parte, hay evidencias de que la aplicación de biorreguladores que reducen el crecimiento vegetativo, favorecen brotación floral al inhibir la biosíntesis de GAs. Paclobutrazol (PBZ) un triazol que bloquea monooxigenasas, inhibe la oxidación de ent-kaureno a ácido ent-kaurenóico (Rademacher, 2000), evitando la formación de GAs como AG₄, AG₃, AG₇ y AG₁ en hojas y yemas apicales (Abdel-Rahim *et al.*, 2011; Upreti *et al.*, 2013). Aunque puede afectar también otras hormonas reduciendo el nivel de ácido abscísico, etileno y ácido indolacético (Berova y Zlatev, 2000; Cárdenas y Rojas, 2003) y aumentando el de citocininas (Abdel-Rahim *et al.*, 2011; Upreti *et al.*, 2013). Otros inhibidores como prohexadiona de calcio (P-Ca), bloquea GA₂₀ 3β-hidroxisilasa inhibiendo la formación de giberelinas biológicamente activas y formando precursores inactivos (Rademacher, 2000; Rademacher *et al.*, 2006).

Algunos autores muestran evidencias de que PBZ es capaz de inducir floración sin presencia de temperaturas frescas en los trópicos. En mango 'Keitt' y 'Tommy

Atkins' con sólo dos semanas a temperaturas inductivas (10/15°C), PBZ redujo el número de días requeridos para floración, lo que indicó que el biorregulador complementó la necesidad de bajas temperaturas para inducción floral (Yeshitela *et al.*, 2004). En mango 'Khiew Sawoey', 91 días después de la aplicación de PBZ (6 g-árbol⁻¹ de i.a.), el 30% de las yemas apicales habían desarrollado primordios florales. Noventa y 100% de los brotes tratados florecieron a los 104 y 112 días después de la aplicación. Contrario a lo anterior, ninguna de las yemas control desarrolló flores (Tongumpai *et al.*, 1996).

En cítricos, PBZ incrementó el porcentaje de floración (70%) y redujo el crecimiento vegetativo; pero en árboles con mucha carga de fruto en el año anterior tuvieron una floración irregular (40%) a pesar de la aplicación de PBZ. Aparentemente en cítricos, la efectividad del PBZ para estimular floración está regulada por carga de fruta (Martínez-Fuentes *et al.*, 2013). Monteiro da Cruz *et al.* (2008) encontraron un incremento en la floración de lima 'Tahiti' con PBZ, pero cuando estos cultivares desarrollaron bajo temperaturas cálidas (25/20°C, día/noche) el biorregulador no estimuló floración.

Los estudios anteriores muestran que temperaturas bajas y edad del brote son factores claves para IF, proceso que induce a las yemas hacia la diferenciación y brotación floral. Aparentemente GAs funcionan como el promotor vegetativo estimulando crecimiento vegetativo en lugar de reproductivo. En mango, existen numerosos estudios que muestran que PBZ, inhibe síntesis de giberelinas, estimulando el proceso de iniciación y diferenciación, aun sin presencia de temperaturas frescas; pero no hay trabajos relacionados con P-Ca y el proceso de inducción y diferenciación floral.

Por otro lado, los meristemas adultos competentes pueden producir estructuras reproductivas, pero la respuesta real dependerá del estímulo ambiental y está controlado por un grupo grande de genes llamados "genes de tiempo de floración" principalmente el gen *FLOWERING LOCUS T (FT)*. Después, el meristemo es activado y comprometido para florecer. En esta fase, señales de varias rutas del tiempo de floración se integran y conducen a la activación de un grupo pequeños de genes llamados "genes de identidad del meristemo" que especifican la identidad floral como

APETALA1 y *LEAFY*, aunque existen otros como *CAULIFLOWER*, *FRUITFULL* y *AP2*. Los genes de identidad del meristemo activan los “genes de identidad de los órganos florales” en regiones discretas de la flor y estos últimos activan corriente abajo “genes de construcción de órganos”, (Modelo A, B, C y E en *Arabidopsis*) los cuales, especifican los diferentes tipos de células y tejidos que constituyen los cuatro órganos florales (Krizek y Meyerowitz, 1996; Ruiz-García *et al.*, 1997; Ditta *et al.* 2004; Liu *et al.*, 2009).

Actualmente, la identificación, cuantificación y expresión de genes relacionados con floración constituye una herramienta importante para entender el proceso. En *Arabidopsis*, una especie anual, se han identificado cuatro rutas que permiten la floración; fotoperiodo, vernalización, giberelinas y autónoma, y su relación a nivel genético ha sido muy estudiado (Wilkie *et al.*, 2008). En la ruta del fotoperiodo, bajo condiciones de día largo (DL), fotorreceptores estabilizan la proteína CO permitiendo la regulación de *FT*. *CO* y *FT* son expresadas específicamente en el tejido vascular de la hoja, el transcripto *FT* se traduce en la proteína FT, la cual es transportada vía floema a los meristemos (Corbesier *et al.*, 2007). En el meristemo, FT forma una proteína compleja con FD, un factor de transcripción expresado preferentemente en el ápice del brote, para interactuar con los genes de la identidad del meristemo *APETALA 1* (*AP1*) (Abe *et al.*, 2005).

Los estudios realizados en *Arabidopsis* han servido como base para estudios moleculares en frutales. En frutales tropicales, los estudios generalmente incluyen una relación de la expresión del gene con la iniciación y desarrollo floral, ambiente y manejo. En mandarina ‘Satsuma’ los niveles del gene ortólogo *FT* se incrementaron con temperaturas frías durante el tiempo de inducción floral (Nishikawa *et al.*, 2007) y en naranjo dulce hay evidencias que los niveles de ortólogos *LFY* y *AP1* se incrementan durante y después de la inducción floral con temperaturas frías (Pillitteri *et al.*, 2004). En el híbrido transgénico de cítrico (*Citrus sinensis* L. Osbeck x *Poncirus trifoliata* L. Raf) una sobre-expresión de *LFY* y *AP1* redujeron sustancialmente la fase juvenil, aunque la floración al parecer dependió del control ambiental (Peña *et al.*, 2001). En *Poncirus trifoliata* la expresión de *FT* le confiere la floración temprana (Endo *et al.*, 2005). Mientras que en mandarina ‘Moncada’ *FT* es inhibido por la carga de fruta.

En árboles de naranjo dulce ‘Salustiana’, se observó que las giberelinas inhibieron floración reprimiendo la expresión de los genes homólogos *FLOWERING LOCUS T*, *CiFT*, en hojas; mientras que el PBZ incrementó la floración estimulando su expresión. La actividad de los homólogos *TERMINAL FLOWER 1*, *FLOWERING LOCUS C*, *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1*, y *APETALA 1* no fueron afectados por los reguladores (Muñoz-Fambuena *et al.*, 2012).

En mango hay poca información al respecto, recientemente, un gene como el *FLOWERING LOCUS T* (FT) fue identificado y caracterizado en mango. La secuencia de *MiFT* mostró una alta identidad al gene *FT* de otras plantas y su expresión incrementó en hojas bajo condiciones inductivas de floración (temperaturas bajas) y en árboles con baja producción de fruta. La aplicación de 250 mg·L⁻¹ de AG₃ inhibió completamente la floración y la expresión de *MiFT* tanto en alta como en baja producción. En este estudio concluyen que *MiFT* es el factor clave en la floración del mango (Nakagawa *et al.*, 2012)

De acuerdo a lo anterior, genes relacionados con el proceso de floración en plantas herbáceas como *Arabidopsis*, han servido como base para realizar estudios en frutales. En subtropicales y tropicales existen trabajos al respecto en cítricos pero en mango la información es muy escasa y en el caso de mango ‘Ataulfo’ es nula, en esta especie de importancia nacional es urgente realizar estudios a nivel molecular para tratar de contrarrestar los efectos del clima en la inducción, diferenciación y brotación floral.

Los objetivos de este trabajo fueron

1. Conocer el efecto de PBZ y P-Ca en el proceso de iniciación y diferenciación floral del mango ‘Ataulfo’, así como también determinar su relación con temperatura.
2. Cuantificar la expresión de genes de floración en mango ‘Ataulfo’ y su relación con ambiente, biorreguladores de crecimiento y metabolismo de giberelinas.

Materiales y Métodos

Experimento 1. Biorreguladores de crecimiento en iniciación y diferenciación floral

El estudio se realizó durante los ciclos 2013-2014 con clima cálido (32-35/16-22°C; día, noche) y presencia de lluvia durante los meses de octubre (122 mm), noviembre (161 mm) y diciembre (104 mm), y 2014-2015 con clima fresco (30-33/12-21°C; día/noche) y presencia de lluvias en octubre (24.4 mm) y noviembre (436 mm). Se seleccionó un huerto comercial de mango 'Ataulfo'/criollo regional de 8 años de edad, distancia de 3 x 2.5 m entre hilera y árbol, respectivamente y ubicado en el municipio de Santiago Ixcuintla, Nayarit.

El manejo del huerto estuvo a cargo del productor y consistió en riego por goteo durante los meses de enero a mayo, después de cosecha (julio 23 de 2013 y agosto 22 de 2014) poda mecanizada en tipo seto con despunte de aproximadamente 50 cm, solo en lado oriente, poniente y parte superior (topping). Fertilización con Nitrofosca[®] a través del sistema de riego y 2 kg de fertilizante orgánico (gallinaza o composta de estiércol de gallina) por árbol aplicado después de cosecha. Se realizaron aplicaciones alternadas (dos en 2014 y cuatro en 2015) de fungicidas durante floración y amarre de fruto, para evitar daños por antracnosis y cenicilla. Los productos comerciales y dosis utilizadas fueron: Prosal[®] (75 g), Azotron[®] (75 ml); Manzate[®] (100 g); y Scala[®] (2 ml·L⁻¹ de agua). En los primeros tres, la cantidad de producto fue disuelta en 200 litros de agua, en todos los fungicidas se usó Inex[®] (1 ml·L⁻¹ de agua) como adherente.

Se seleccionaron 36 árboles (12 por cada tratamiento) en los cuales se evaluaron las dosis de 500 mg·L⁻¹ de prohexadiona de calcio (P-Ca), en aplicaciones repetidas, 3X, a 30+45+60 días después de la poda (ddp); 2500 mg·L⁻¹ de paclobutrazol (PBZ); (1X, 30 ddp); y testigo. La solución de P-Ca (Apogee[®]) se preparó con agua corriente y se usó 1 ml·L⁻¹ de surfactante Inex[®]. P-Ca se aplicó al follaje a punto de goteo mediante bomba aspersora motorizada. PBZ (Austar[®]) fue aplicado al suelo, bañando el tallo principal a una altura de 30 cm de la base del suelo. Los árboles testigo fueron asperjados con agua + surfactante. En todos los casos, se trataron 12 árboles.

En 2013-2014, seis árboles fueron destinados para el muestreo de yemas, en cada árbol se marcaron aproximadamente 80 brotes del flujo de verano (emergidos después de la poda de cosecha). De cada árbol, se tomaron cuatro yemas apicales cada 15 días de septiembre 30 a noviembre 30 y cada 8 días de diciembre hasta inicio de floración (13 y 26 febrero y 6 de abril en PBZ, P-Ca y testigo, respectivamente). Se muestreó entre 60 – 72 brotes-árbol¹. El resto de brotes fue desechado. Durante este ciclo, temperatura y precipitación provocaron un segundo flujo de crecimiento vegetativo en la segunda semana de noviembre en todos los brotes marcados en verano; por tanto, de noviembre hasta inicio de floración las yemas fueron colectadas en este flujo. A las yemas se les eliminó la mayoría de escamas, fueron fijadas en FAA, se incluyeron en parafina, se cortaron en micrótopo y se observaron al microscopio (Avitia, 1996)

En 2014-2015, se seleccionaron seis árboles y se marcaron 24 brotes-árbol¹ del flujo de verano (emergidos después de la poda de cosecha). En estos brotes se registró el estadio de iniciación y diferenciación floral cada 15 días de septiembre 30 a noviembre 30 y semanalmente de diciembre hasta inicio de floración (16 y 28 de enero, 13 de marzo en PBZ, P-Ca y testigo, respectivamente).

Las variables evaluadas en cada ciclo de estudio fueron las siguientes:

Morfología de yemas. Para el proceso de iniciación y diferenciación floral, se estableció una escala con cuatro estadios morfológicos de la yema, basadas en los resultados presentados para Manila (Osuna-Enciso *et al.*, 2000) y Tommy Atkins (Pérez *et al.*, 2009). Estadio 1 (E1) yema vegetativa, presenta el ápice en forma de cúpula y primordios foliares en su base. Externamente, la yema presenta forma puntiaguda con escamas completamente cerradas. Estadio 2 (E2) iniciación floral, yema con ligero alargamiento del eje principal y protuberancias meristemáticas en las axilas de los primordios foliares inferiores y de la parte media de las yemas. La apariencia externa muestra ligera yema ensanchada en su base y ligera separación de escamas en parte apical de la yema. Estadio 3 (E3) yema determinada, alargamiento vigoroso del eje principal de las yemas, formación de ejes secundarios, terciarios de la inflorescencia y

primordios florales. Externamente la yema se presenta abultada, de forma redonda y separación de escamas. Estadio 4 (E4) Yema diferenciada, alargamiento de los ejes terciarios, formación de meristemas reproductores en la axila de hipsófilos y desarrollo de primordios florales. Externamente la inflorescencia emerge entre las brácteas, ya no hay presencia de escamas. La apariencia externa se utilizó para evaluar el proceso durante 2014-2015.

Inicio de diferenciación (ID). Se consideró la fecha en la cual un 5% de yemas muestreadas mostraron alargamiento de eje principal y protuberancias meristemáticas en las axilas de los primordios foliares (E2).

Duración del proceso de diferenciación. En las mismas yemas, se contabilizaron los días desde inicio de diferenciación (E2) hasta término del proceso; considerando E4 como yema diferenciada.

Porcentaje de yemas diferenciadas. Se valuó considerando el número de yemas que alcanzaron E4 entre el total de yemas muestreadas.

Brotación floral. Se evaluó en seis arboles restantes, no usados para muestreo de yemas, donde se registró semanalmente el porcentaje de inflorescencias que cubrían la copa del árbol a partir de inicio (5% de floración) hasta plena floración (80%).

Temperatura y precipitación. En ambos ciclos se colocó en el huerto un sensor de temperatura (HOBOS® Pro Series) donde se registró temperatura máxima y mínima cada media hora de septiembre a febrero del siguiente año. Los datos de precipitación fueron tomas de la estación de Verdineño, ubicada a 2 km del huerto (Red de Estaciones Agroclimatológicas del estado de Nayarit).

El diseño experimental fue completamente al azar en los dos ciclos productivos. En cada ciclo se evaluaron tres tratamientos con 6 repeticiones y un árbol como parcela útil para la variable floración. Se efectuó análisis de varianza de los resultados y se usó la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$) para comparación de medias. Se utilizó el programa SAS versión 9.2.

Experimento 2. Genes relacionados con el proceso de floración y su interacción con ambiente y biorreguladores de crecimiento.

El estudio se realizó durante el ciclo 2013-2014 con clima cálido (32-35/16-22°C; día, noche) y presencia de lluvia durante los meses de octubre (122 mm), noviembre (161 mm) y diciembre (104 mm). Se seleccionó un huerto comercial de mango 'Ataulfo'/criollo regional de seis años de edad, distancia de 3 x 2.5 m entre hilera y árbol, respectivamente y ubicado en el municipio de Santiago Ixcuintla, Nayarit. El manejo estuvo a cargo del productor y fue similar que en el experimento anterior.

Se seleccionaron 48 árboles en los cuales se evaluaron las dosis de 500 mg·L⁻¹ de prohexadiona de calcio (P-Ca), en tres aplicaciones, 3X, 30+45+60 días después de la poda (ddp); 2500 mg·L⁻¹ de paclobutrazol (PBZ); (1X, 30 ddp); 200 mg·L⁻¹ de ácido giberélico (AG₃) (1X; 120 ddp) y un testigo. En todos los casos, se asperjaron 12 árboles.

La solución de P-Ca (Apogee®) se preparó con agua corriente y se usó 1 ml·L⁻¹ de surfactante Inex®. P-Ca se aplicó al follaje a punto de goteo mediante bomba aspersora motorizadas. PBZ (Austar®) fue aplicado al suelo, bañando el tallo principal a una altura de 30 cm de la base del suelo. La solución de AG₃ se preparó con agua corriente y se usó urea foliar 1 % como penetrante y 1 ml·L⁻¹ de surfactante Inex®. Los árboles testigo fueron asperjados con agua + urea + surfactante.

Las variables evaluadas en cada ciclo de estudio fueron las siguientes:

1. Expresión de los genes *MiFT*, *MAP1* y *MiGA_{20-ox}* mediante extracción de ARN, síntesis de ADN complementario (cDNA, por sus siglas en inglés) y cuantificación por PCR tiempo real (qPCR).

Para los tratamientos con P-Ca y PBZ, se colectaron brotes emergidos a los 0 días después de la aplicación (dda) y posteriormente cada mes hasta el inicio de floración (septiembre a febrero en 2014). En árboles asperjados con AG₃ se colectaron brotes a los 0, 30 y 90 días después de la aplicación. En el testigo, los brotes se colectaron en fecha similar a los tratamientos P-Ca y PBZ y se agregó otro muestreo a los 90 dda de AG₃ (febrero) para coincidir con el lote tratado con este producto.

En cada fecha, 36 brotes fueron seleccionados de seis árboles por tratamiento asignados previamente para el muestreo y se tomaron 12 brotes en orientación norte (lado sombreado), 12 en oriente (lado soleado por la mañana) y 12 en poniente (lado soleado por la tarde). Hojas y yemas apicales fueron separados, identificadas y almacenadas a -80°C hasta su utilización para la extracción de ARN

Extracción de ARN. Se utilizó la metodología de Nakagawa *et al.* (2012). La extracción se hizo utilizando el Kit RNAqueous (Applied Biosystems). Para remover los fenoles, se utilizó el kit Plant RNA isolation Aid (Applied Biosystems), el cual fue agregado en el primer paso del procedimiento de extracción. Posteriormente la extracción fue tratada con TURBO DNA-free Kit (Applied Biosystems) para remover el DNA genómico y purificar y/o limpiar la muestra.

Síntesis de ADN complementario. La primera hebra del ADN complementario (cDNA) fue sintetizado por retrotranscriptasa, usando SuperScript® VILO™ cDNA Synthesis Kit (Applied Biosystems).

Procedimiento.

1. Se combinó en un tubo (en hielo) los siguientes reactivos:

Para una reacción o muestra (1X)

- a) 4 μL de 5X mezcla de reacción VILO
- b) 2 μL de 10X mezcla de enzima SuperScript.
- c) RNA 447 ng

Se aforó con agua DEPC hasta 20 μL

***Nota:** Combinar en un tubo (en hielo) la cantidad suficiente para varias reacciones, según sea el caso de los siguientes reactivos, excepto el RNA: (Ej. Si son 20 reacciones o muestras, preparar 80 μL de 5X mezcla de reacción VILO (4 μL x 20 muestras) + 40 μL de 10X mezcla de enzima SuperScript (2 μL x 20 muestras).

2. Se mezcló suavemente el contenido y se incubó (termociclador) a 25°C por 10 min.

3. Posteriormente a 42°C por 60 min.
4. La reacción terminó a 85°C por 5 min.
5. El cDNA se almacenó a -20 °C hasta su uso en la PCR Tiempo Real

PCR Tiempo Real Cuantitativo. Siguiendo con la metodología de Nakagawa *et al.*, (2012), los primers forward y reverse para *MiFT*, *MAP1*, and *MiGA_{20-ox}* fueron diseñados con los software reportados por el mismo autor.

Secuencias de primer para la cuantificación y expresión de los genes de floración en mango 'Ataulfo' de acuerdo a Nakagawa *et al.* (2012).

Genes ^z	Secuencia	Primer
MiFT	CAACATTGGGGATTACAGG	Forward
	GAAGTAAACAGCAGCCACAGGA	Reverse
MAP1	AGAACAAGATCAACCGTCAGGTC	Forward
	GCAACTTCAGCATCACAAAGAAC	Reverse
MiGA _{20-ox}	AACCATCCTCCACCAAGACC	Forward
	AATGCCCAATGAACCCAGTA	Reverse
MiEF	ACCAGAGATGGGGACAAAGG	Forward
	TGCTGCTGTAACAAGATGGATG	Reverse

^z Para expresión y cuantificación

Para PCR tiempo real, los ensayos o análisis fueron realizados con Platinum® SYBR® Green qPCR SuperMix-UDG (Applied Biosystems) usando StepOne (Applied Biosystems) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Cada reacción tuvo un volumen final de 25 µl, contenía 12.5 µl de Platinum® SYBR® Green, 1 ng de cada uno de los primers forward y reverse, 0.5 µl de ROX, 9 µl de agua deionizada (dH₂O), 2 µl de cDNA de la muestra. Las condiciones del termociclador fueron 95°C por 30 s seguido de 40 ciclos de 95°C por 5 s y 60°C por 30 s. Se utilizó un gen endógeno de control interno (*MiEF*) en todas las reacciones. PCR tiempo real fue realizado en tres repeticiones para cada gen estudiado y los niveles de

transcripción fueron normalizados contra *MiEF*. Se realizó el análisis de los datos mediante el método $2^{-\Delta\Delta CT}$ propuesto por Livak and Schmittgen (2001).

2. Número y tipo de crecimiento. En seis árboles restantes, se etiquetaron 30 brotes apicales-árbol⁻¹ emergidos después de la poda de verano (Agosto 5, 2013), 10 del lado oriente, 10 poniente (lados soleados) y 10 Norte (lado sombreado); es decir, 60 brotes-lado-tratamiento⁻¹ y un total de 180 por tratamiento. En estos brotes se registró el número y tipo de crecimiento (vegetativo, reproductivo e inactivo) emergido en la yema apical de los brotes durante el periodo de floración (de enero – marzo en 2014 y diciembre - febrero 2015). Con estos datos, se calculó el porcentaje de brotes florales, vegetativos e inactivos, considerando el número de cada uno de ellos entre el total de brotes evaluados, Ej. Número de brotes florales/total de brotes marcados

3. Temperatura y precipitación. Los datos de temperatura fueron tomados del sensor colocado en el experimento anterior y los de precipitación de la estación Verdineño, ubicada a 2 km del huerto (Red de Estaciones Agroclimatológicas del estado de Nayarit).

El diseño experimental fue completamente al azar. Se evaluaron 4 tratamientos con seis repeticiones y un árbol como parcela útil. Se efectuó análisis de varianza de los resultados y se usó la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$) para comparación de medias. Se utilizó el programa SAS versión 9.2.

Debido a la escasa disponibilidad de reactivos se decidió realizar la expresión del gen *MiFT* (*gen de interés*), mediante qPCR, considerando todas las fechas y orientación (lado norte, lado oriente, y lado poniente) para el tratamiento con PBZ, porque hipotéticamente es donde el gen podría expresarse con seguridad.

La información se analizó con diseño completamente al azar con arreglo de tratamientos factorial (5 X 3), donde los factores fueron Fechas (septiembre, noviembre, diciembre, enero y Febrero) y orientación en el árbol (lado oriente, poniente y norte). Se evaluaron 15 tratamientos con tres repeticiones.

Posteriormente se consideró todos los tratamientos (PBZ, P-Ca, AG₃ y testigo) y fechas, del lado oriente por ser el lado donde se expresó el gen en el análisis anterior y la información se analizó bajo un diseño experimental completamente al azar en cada fecha muestreada.

Resultados

Experimento 1. Biorreguladores de crecimiento en iniciación y diferenciación floral

Organogénesis Floral. En yemas vegetativas (E1) se observó el meristemo en forma de cúpula con primordios foliares y sin presencia de meristemos en axilas de los mismos. Se observó la presencia de abundantes taninos en la médula meristemática, no así en los tejidos de la periferia del meristemo apical (Figura 3.1A). Externamente la yema presentó una forma puntiaguda con escamas completamente cerradas (Figura 3.1B).

Yemas con ligero alargamiento del meristemo apical, presencia de meristemos de ejes secundarios en las axilas de las brácteas y presencia de taninos, se definieron como el inicio de la diferenciación (E2) (Figura 3.2A). Externamente la yema se observó ensanchada en su base, con ligera separación de escamas en el ápice (Figura 3.2B).

En E3, se observó un alargamiento vigoroso del eje principal de la inflorescencia (raquis), prácticamente desprovisto de taninos. Hubo formación de protuberancias de ejes secundarios en ápice y desarrollo de ejes secundarios en la base, con protuberancias de ejes terciarios (Figura 3.3A). Externamente, la yema presentó una forma redonda con escamas completamente separadas (Figura 3.3B).

Las yemas diferenciadas, E4, se caracterizaron por alargamiento de ejes terciarios de la inflorescencia, formación de meristemos reproductivos (mr) en las axilas de los hipsófilos (hi) y el desarrollo de primordios florales, sépalos, pétalos, estambres (Figura 3.4A). Externamente, la inflorescencia emerge entre las brácteas y no hubo presencia de escamas (Figura 3.4B).

Ambiente e iniciación floral. Las condiciones ambientales durante el periodo de diferenciación hasta inicio de floración fueron las siguientes: de septiembre 30 a diciembre 15 las temperaturas diurnas oscilaron entre 30 y 34.4°C; durante enero y febrero hubo temperaturas de 29 a 33°C y en marzo de 31 a 35°C. De Septiembre a noviembre la temperatura nocturna fue entre 20 y 24°C, durante diciembre entre 17 y 19 y de enero a marzo se mantuvo entre 15 y 16°C. Se tuvo la presencia de lluvia durante los meses de septiembre a diciembre (Figura 3.5A).

Duración del proceso de diferenciación. Se encontraron diferencias significativas ($Pr = <0.0001$) entre tratamientos. Las yemas permanecieron vegetativas desde el primer muestreo (septiembre 30) hasta, diciembre 30, enero 13 y febrero 12 (PBZ, P-Ca y Testigo, respectivamente). En yemas con PBZ, E2 ocurrió el 5 de enero y E4 el 5 de febrero con una duración de 31 d, con P-Ca los mismos estadios se presentaron el 20 de enero y 18 de febrero, durando el proceso 29 d. Las yemas testigo alcanzaron E2 el 18 de febrero y E4 hasta el 29 de marzo, la duración del proceso fue 39 d (Figura 3.5B).

Para febrero 5 de 2014, brotes con aplicación de PBZ tuvieron 37% de yemas vegetativas (E1), y 63 en Estado 4. Brotes con P-Ca presentaron 50% de yemas vegetativas, 12% en E2, y 38 en E4 en febrero 18. En el testigo los brotes tuvieron 75% de yemas vegetativa en marzo 29, 10% en E2 y 15 en E4 (Figura 3.6)

Durante 2014-2015, ambiente fresco, la temperatura diurna fue $32 - 33^{\circ}\text{C}$ del 30 de septiembre a 31 de octubre, de noviembre a febrero osciló entre 26.8 y 39° y en marzo fue de 30°C . De septiembre a octubre la temperatura nocturna estuvo entre 21 y 23°C , a partir del 15 de noviembre y hasta marzo de 2015 la temperatura mínima se mantuvo entre 15 y 18° . Hubo presencia de lluvia durante los meses de septiembre a noviembre de 2014 y de enero a marzo 2015 (Figura 3.7A). Se encontraron diferencias significativas en la duración del proceso de diferenciación ($Pr = <0.0001$).

En brotes con PBZ la yema permaneció vegetativa desde septiembre 30 hasta diciembre 9. E2 ocurrió en diciembre 15 y el 9 de enero las yemas tenían E4, con una duración de 25 d para la diferenciación. Con P-Ca, las yemas permanecieron vegetativas desde septiembre hasta diciembre 23, E2 fue en diciembre 30 y E4 ocurrió el 20 de enero, el proceso duró 21 d. En el testigo las yemas permanecieron vegetativas hasta el 20 de enero, E2 ocurrió el 28 del mismo mes y las yemas alcanzaron E4 en marzo 5, el proceso de diferenciación fue de 36 d (Figura 3.7B).

Porcentaje de yemas diferenciadas. Para el 9 de enero 27.7% de yemas con PBZ permanecían en E2, y 72.3% de las mismas alcanzaron E4. Brotes con P-Ca presentaron $\approx 44\%$ de yemas en estado vegetativo (Estadio 1), 11% en Estadio 2, 44.5% alcanzaron E4 el 20 de enero. Los brotes testigo, el 5 de marzo tuvieron $\approx 29\%$

de yemas en estado vegetativo, 42% en E2 y 28 se encontraron en E4, respectivamente (Figura 3.8).

Porcentaje de floración. Se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de brotación floral en ambos ciclos evaluados ($Pr = <0.0001$ y 0.0021 ; 2013-2014, 2014-2015, respectivamente). En 2014, árboles con PBZ obtuvieron 63% de floración, con P-Ca se obtuvo 38% y en testigo 15%. Al siguiente año, 2015, se tuvo 70% de floración en árboles con PBZ, 45% con P-Ca y 30% en árboles testigo (Figura 3.9).

Experimento 2. Genes relacionados con el proceso de floración y su interacción con ambiente y biorreguladores de crecimiento.

La cantidad promedio de RNA extraído en 25 mg de hojas maduras liofilizadas fue de $44.7 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ en los tratamientos con PBZ ($2500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 1X a 30 ddp) alcanzando una relación 260/280 de 1.96 en promedio. La cantidad promedio de cDNA fue $2103.6 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ y una relación 260/280 de 1.87 (Cuadro 3.1). En hojas con P-Ca ($500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 3X a 30+45+60 ddp) la cantidad de RNA extraída en 25 mg de tejido vegetal fue de $42.3 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, con una relación de 1.95 (260/280), mientras que la cantidad de cDNA fue de $2025 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ y una relación de 1.87. Con AG_3 , la cantidad de RNA en hojas fue de $36.1 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ y de 2006.7 el contenido de cDNA con una relación 260/280 de 1.92 y 1.85, respectivamente. En hojas testigo, se purificaron $33.6 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ de RNA de la misma cantidad mencionada y $2006.3 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ de cDNA, la relación 260/280 fue de 1.89 y 1.85, respectivamente.

En yemas apicales la purificación de ARN produjo menor concentración que en hojas. Se obtuvieron en promedio $13.3 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ de ARN de con PBZ, 6.9 con P-Ca y de 6.1 con AG_3 . En el testigo la cantidad fue de $8.5 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$. La relación 260/280 fue de 1.76 en PBZ, de 1.29 para P-Ca, de 1.42 para AG_3 y de 1.35 en testigo (Cuadro 3.2). Respecto a la cantidad promedio de cDNA en el mismo tejido, esta fue de $2085.3 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ con PBZ, de 1960.0 con P-Ca, 1680.4 con AG_3 y de 1905.6 en testigo. La relación 260/280 fue de 1.66 para PBZ, de 1.58 para P-Ca y AG_3 y de 1.7 en testigo.

Se encontraron diferencias estadísticas en la expresión de *MiFT* entre fechas ($Pr = <0.0001$), orientación ($Pr = <0.0001$), y en la interacción fecha*orientación ($Pr =$

<0.0001). Respecto a fecha, *MiFT* se expresó en todos los meses muestreados, la expresión varió de 0.37 hasta 31.4% respecto a *MiEF* (gen endógeno) (Figura 3.10). El mes de mayor expresión fue diciembre seguido de enero y febrero. En la orientación, la expresión de *MiFT* fue 0.088, 12.6 y 1.61% en el lado norte, oriente y poniente, respectivamente (Figura 3.10). Considerando la interacción se encontró que en el mes de septiembre la expresión fue *MiFT* con relación a *MiEF* fue de 0.77 y 0.33% en lado oriente y poniente, respectivamente, en noviembre la expresión fue de 0.51, 2.82 y 1.5% en lado norte, oriente y poniente, en diciembre *MiFT* se expresó sólo en lado oriente con 30.3% y poniente con 1.13, mientras que en enero a expresión fue de 0.3% en lado norte y poniente y de 22.2% en lado oriente. En febrero la expresión fue en lado norte, oriente y poniente de 3.3, 5.7 y 4.8%.

En 2014, la temperatura mínima en los meses de octubre y noviembre se mantuvo entre 23 y 24°C, mientras que la máxima en esos meses fue entre 32 y 35°C, en diciembre la temperatura mínima descendió hasta 17°C y en enero y febrero se mantuvo entre 15 y 18°C. Se tuvo presencia de lluvias durante el mes de octubre y noviembre (122 y 161 mm, respectivamente), en diciembre la precipitación fue de 105 mm y hubo escasa lluvia en enero y febrero (Figura 3.11)

De los resultados obtenidos con PBZ, se evaluó la expresión del gen *MiFT* mediante qPCR, considerando todos los tratamientos y fechas, pero sólo en el lado oriente, que en tratamientos de PBZ fue el lado con mayor expresión.

Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en el mes de noviembre (Pr = < 0.0001), diciembre (Pr = < 0.0001), enero (Pr = < 0.0001) y febrero (Pr = < 0.0001). En hojas aplicadas con PBZ *MiFT* se expresó 0.7% en septiembre con relación a *MiEF*, en noviembre la expresión fue de 2.8% aumentando en diciembre hasta 30.3% y 22.2 en enero, en el mes de febrero fue de 6.5 (Figura 3.12). La expresión en hojas con P-Ca fue de 0.02% en septiembre, de 1.1 en noviembre y se incrementó en diciembre a 4.7% y bajó en enero con 1.1%, en octubre y febrero la expresión fue de 0%. En hojas testigo (sin regulador) la expresión de *MiFT* fue de 0.06 en septiembre, cero en octubre, noviembre y diciembre, 0.87% en enero y cero en febrero. En hojas con AG₃, la expresión fue 0% en los meses evaluados a excepción de febrero que tuvo un 0.02% de expresión.

Respecto al tipo de crecimiento emergido en el periodo de floración, en el lado oriente se encontró un porcentaje de brotes florales de 38, 63, 0 y 31% en brotes tratados con P-Ca, PBZ, AG₃ y sin tratar (testigo), respectivamente. En el mismo lado solo PBZ presentó 12% de brotes vegetativos. El resto de los brotes de cada tratamiento permanecieron inactivos con 62, 25, 100 y 69% en P-Ca, PBA, AG₃ y testigo, respectivamente (Figura 3.13). En el lado poniente, la brotación floral fue de 12.5, 31, 0 y 25% para los tratamientos P-Ca, PBZ, AG₃ y testigo respectivamente. El testigo presentó 6% de brotes vegetativos y el resto en todos los tratamientos permanecieron inactivos con 87.5 y 100% de brotes con P-Ca y AG₃, respectivamente y 69% en brotes con PBZ y testigo. En el lado norte, brotes con P-Ca y PBZ tuvieron 25 y 44% de flores, en testigo 6% fue vegetativo y el resto permaneció inactivo con 75, 56 100 y 94% para P-Ca, PBZ, AG₃ y testigo, respectivamente.

Discusión

Experimento 1. Biorreguladores de crecimiento en iniciación y diferenciación floral

Los cuatro estadios encontrados y caracterizados en este estudio coincidieron con lo reportado por varios autores. En general, en mango se han definido cuatro estadios importantes del proceso de diferenciación floral, donde el inicio del mismo se caracterizó por un ligero alargamiento del eje principal y formación de protuberancias meristemáticas en las axilas de los primordios foliares y el último o cuarto por alargamiento de ejes terciarios de la inflorescencia, la formación de meristemas reproductivos, así como el desarrollo de primordios florales, sépalos, pétalos y estambres. (Ravishankar *et al.* 1979; Palanichamy *et al.*, 2012). No obstante, Osuna-Enciso *et al.* (2000) y Pérez *et al.* (2009) definieron 7 y 12 estadios de desarrollo de yema en Manila y Tommy Atkins, respectivamente. En el presente estudio sólo se caracterizó hasta cuatro Estadios, ya que ocho días después de éste se observó la aparición de inflorescencias.

Durante 2013-2014, la iniciación ocurrió cuando las temperaturas se mantuvieron entre 28-30/14-17°C (día/noche) en los meses de enero y febrero. Durante 2014-2015, el inicio del proceso ocurrió en fecha más temprana (diciembre y enero) con temperaturas entre 27-28/15-16°C (día/noche). La iniciación floral ocurrió con temperaturas diurnas ligeramente más altas en el primer ciclo; aunque las nocturnas fueron muy similares manteniéndose entre 14 -17°C, lo que favoreció la inducción floral (IF) ocasionando el inicio del proceso una vez que la yema había recibido la señal. Lo anterior está documentado por numerosos estudios donde mencionan que IF es estimulada por temperaturas bajas en condiciones subtropicales (Nuñez-Elisea y Davenport; 1994; Osuna-Enciso *et al.*, 2000; Yeshitela *et al.*, 2004; Wilely y Schaffer, 2009) y en condiciones tropicales aparentemente la edad del último flujo (siete semanas hasta cinco meses) es importante (Nuñez-Elisea y Davenport, 1995; Davenport, 2000; Davenport, 2007, Ramírez y Davenport, 2010).

En nuestro estudio, en los meses de noviembre y diciembre de 2013, periodo en que ocurre normalmente iniciación y diferenciación floral, las temperaturas fueron

cálidas, hubo presencia de lluvias y los brotes tenían sólo siete semanas de edad debido al segundo flujo presentado a principios de noviembre de 2013, lo que ocasionó que las yemas permanecieran vegetativas durante ese tiempo. En este periodo las condiciones ambientales favorecieron crecimiento vegetativo a expensas del reproductivo, debido probablemente a la presencia GAs. De acuerdo con Davenport (2007), GAs pudieran ser el promotor que induce crecimiento vegetativo bajo este tipo de ambiente. Contrario a lo anterior, en 2014 se presentaron temperaturas frescas durante el mismo periodo (noviembre-diciembre) y los brotes contaban con 4 meses de edad (no hubo presencia de un segundo flujo), lo que causó probablemente IF y por tanto la iniciación del proceso de diferenciación, observando que además de la edad del brote la temperatura fue también importante, pero no así la humedad que estuvo presente en ambos ciclos.

En ambos ciclos, se observó menor duración del proceso (de E2 hasta E4) en yemas con P-Ca y mayor en el testigo. No obstante, en los dos ciclos evaluados, se logró una iniciación y diferenciación floral más temprana en yemas con PBZ, posteriormente en aquellas donde se aplicó P-Ca y más tarde en yemas de brotes testigo. En mango se menciona que el tiempo en que ocurre iniciación floral y la duración del proceso puede variar entre cultivares, ambiente y manejo del cultivo (Ravishankar *et al.*, 1979; Osuna-Enciso *et al.*, 2000; Pérez *et al.*, 2009; Palanichamy *et al.*, 2012).

En el presente estudio, la aplicación de biorreguladores, además de ambiente, estimuló una iniciación del proceso más temprana sobre todo con PBZ; pero con P-Ca, aunque inicia más tarde que PBZ, el proceso fue más rápido. Al respecto, se sabe que GAs inhiben diferenciación floral promoviendo crecimiento vegetativo, por lo que inhibidores de su síntesis como PBZ y P-Ca pueden favorecer el proceso (Tongumpai *et al.*, 1996; Rademacher, 2000; Yeshitela *et al.*, 2004; Abdel-Rahim *et al.*, 2011; Upreti *et al.*, 2013). Aparentemente PBZ bloquea monooxigenasas inhibiendo la oxidación de ent-kaureno a ácido ent-kaurenóico (Rademacher, 2000); mientras que P-Ca, bloquea GA₂₀ 3β-hidroxilasa inhibiendo la formación de giberelinas biológicamente activas y formando precursores inactivos (Rademacher, 2000; Rademacher *et al.*, 2006).

Tanto en ambiente cálido como fresco, se logró mayor porcentaje de yemas diferenciadas (E4) con la aplicación de los biorreguladores respecto al testigo. Bajo ambiente cálido (2013-2014) brotes con PBZ tuvieron 76% más yemas que alcanzaron E4 y con P-Ca 44%, respecto al testigo. Resultados similares en el porcentaje se obtuvieron en un clima fresco. Resultados afines encontraron por Tongumpai *et al.* (1996) en mango 'Khiew Sawoey', mencionando que el 30% de las yemas apicales habían desarrollado primordios florales a los 91 d después de la aplicación de PBZ (6 g-árbol⁻¹ de i.a.) mientras que las yemas testigo permanecían vegetativas.

Con temperaturas cálidas, en todos los tratamientos hubo brotes con yemas que permanecieron vegetativas durante todo el proceso, lo que probablemente ocasionó una gran cantidad de brotes inactivos, aunque en testigo el porcentaje fue mayor. Además, se observó un porcentaje de yemas en E2 en brotes con P-Ca y testigo (12 y 10%, respectivamente). Con temperaturas frescas (2014-2015), PBZ no tuvo brotes vegetativos que quedaron inactivos como en P-Ca y testigo (≈45 y 29%, respectivamente) pero si se encontraron brotes con yemas en E2 (iniciación) (28, 11 y 42%, con PBZ, P-Ca y testigo), que dieron lugar más tarde a crecimiento vegetativo.

De acuerdo con Bangerth (2009) en árboles frutales una gran cantidad de meristemas permanecen vegetativos, lo que le confiere la perennebilidad, mientras que en plantas anuales todos los meristemas son inducidos a florecer al mismo tiempo con la consecuente terminación de la vida de las plantas. La perennebilidad está regulada por genes epigenéticos que evitan o impiden la parcial o total accesibilidad de los meristemas a reaccionar a ciertas condiciones endógenas de inducción floral.

Finalmente, se logró mayor porcentaje de floración en árboles tratados con la aplicación de biorreguladores de crecimiento que inhiben la síntesis de giberelinas como PBZ y P-Ca, En 2014 la floración fue 77 y 61% mayor en árboles con PBZ y P-Ca, respectivamente con relación al testigo que floreció apenas un 15%. Los resultados fueron similares en 2015. El porcentaje de floración logrado en cada tratamiento y año evaluado, coincide con el porcentaje de yemas que alcanzaron E4 días antes de floración. No obstante, en 2015, la floración fue en fecha más temprana (enero en PBZ y P-Ca y febrero en testigo) respecto al año anterior (finales de enero y mediados de marzo con PBZ y P-Ca y finales de marzo en testigo). Así como también se logró

floración adelantada con PBZ y P-Ca en los dos periodos evaluados, respecto al testigo, 45 y 30 días con PBZ y P-Ca en 2014 y 46 y 36 días en 2015.

Hay evidencias en mango 'Keitt' y 'Tommy Atkins' que PBZ fue capaz de inducir floración sin la presencia de temperaturas frescas con solo dos semanas de duración de las mismas (10/15°C; día/noche) en el trópico, indicando que el biorregulador complementó la necesidad de bajas temperaturas para inducción floral (Yeshitela *et al.*, 2004). En nuestro estudio, tanto PBZ como P-Ca promovieron floración sólo en presencia de temperaturas frescas.

Resultados en cítricos mostraron que PBZ incrementó el porcentaje de floración (70 %), pero en árboles con mucha carga de frutos el año anterior tuvieron floración irregular a pesar de la aplicación de PBZ; lo que indicó que la efectividad del producto estuvo regulado por la carga de fruta (Martinez-Fuentes *et al.*, 2012). Monteiro da Cruz *et al.* (2008) encontraron un incremento en la floración de lima 'Tahiti' con PBZ, pero cuando este cultivar desarrolló bajo temperaturas cálidas (25/20°C, día/noche) el regulador no estimuló floración, lo que coincide con los resultados obtenidos durante 2013-2014, donde la iniciación y diferenciación floral se presentaron hasta que la temperatura fue más fresca como se mencionó al inicio de la discusión.

Experimento 2. Genes relacionados con el proceso de floración y su interacción con ambiente y biorreguladores de crecimiento.

La cantidad extraída de ARN en hojas de mango 'Ataulfo' fue suficiente para lograr una cantidad sobresaliente de cDNA una vez convertido mediante retrotranscriptasa, enzima que existe en la naturaleza como parte del mecanismo de replicación en virus, y utiliza un tARN como oligonucleotido o *primer* (Falcón y Valera, 2007). El ARN obtenido fue de buena calidad, de acuerdo a la relación 260/280 obtenida en el espectrofotómetro. Esta relación se considera para evaluar la calidad de los ácidos nucleicos debido a que, por su estructura, estos se absorben en la longitud de onda 260 mientras que a 280 se absorben proteínas y compuestos fenoles, por lo que una relación 260/280 es usada para asumir la calidad y pureza de los ácidos, la cual es entre 1.8 - 2.0; cantidades menor a estos significa que hay presencia de

proteínas, fenoles u otros contaminantes (Wilfinger *et al.*, 1997; Anónimo, 2007). De igual manera la cantidad de cDNA obtenido fue de buena calidad sin contaminación de compuestos como los mencionados anteriormente. Esto permitió realizar de manera eficiente la qPCR para cuantificar la expresión del gen *MiFT* con relación a *MiEF*.

No obstante en tejido como yema apical, la cantidad extraída de ARN fue demasiado baja y de mala calidad, mostrando una relación 260/280 inferior a 1.8, lo que indicó una posible contaminación con proteínas o bien presencia de fenoles en este tipo de tejido. Aun cuando la cantidad de cDNA obtenida fue alta al utilizar la retrotranscriptasa, la calidad fue también baja considerando la relación reportada para alcanzar la pureza. Lo anterior provocó resultados negativos en la cuantificación de los genes *MAP1* y *MiGA_{20-ox}* mediante qPCR, en este tipo de tejido.

En hojas tratadas con PBZ, la expresión de *MiFT* (gen de interés) con relación a *MiEF* (gen endógeno) fue observada en todos los meses de estudio, pero sólo en el lado oriente (lado soleado durante la mañana) se expresó en mayor cantidad respecto al lado poniente (soleado por la tarde). En lado norte (siempre sombreado) la expresión fue en los meses de noviembre, enero y febrero; aunque fue mínima comparada con lado oriente y poniente. Lo anterior indica que probablemente el gen *MiFT* está regulado por luz al expresarse en mayor cantidad del lado soleado y su expresión fue baja en el lado poniente donde por la mañana los árboles permanecían sombreados y recibían luz sólo por la tarde y mínima en lado norte donde los árboles siempre están sombreados por la unión de copas entre árboles (Formación tipo seto).

En manzano 'Fuji' no encontraron diferencias en la expresión del gen *MdFT1* (homólogo de *MiFT*) en yemas apicales de brotes sombreados y soleados pero la expresión de *MiTFL1* (represor floral) fue mayor en brotes sombreados (Kittikorn *et al.*, 2011), resultados que no coinciden con nuestro estudio, no obstante estos se obtuvieron en diferente especie y tejido y el sombreado fue de solo un 50%, al trabajar bajo condiciones controladas y en el presente estudio, al menos de lado norte, el sombreado fue hasta de un 90%.

La mayor expresión se encontró en diciembre y enero en lado soleado, lo que coincidió con la presencia de temperaturas más frías y probablemente con el momento en que ocurrió la inducción e iniciación floral en mango, como lo reportado en

mandarina 'Satsuma' por Nishikawa *et al.* (2007) donde el nivel del gen ortólogo *CiFT* incrementó con temperaturas frías durante el tiempo de inducción floral y en naranjo dulce *LFY* y *AP1* incrementaron durante y después de la inducción floral (Pillitteri *et al.*, 2004). Por otro lado, Nakagawa *et al.* (2012) identificó un gene como el *FLOWERING LOCUS T* (FT) en hojas de árboles de mango 'Irwin' que desarrollaban bajo temperaturas inductivas a floración (15°C). En nuestro estudio se observó una mayor expresión del gen mencionado en hojas de 'Ataulfo' en los meses de diciembre y enero, meses en los cuales las temperaturas fueron más bajas que en septiembre, octubre o noviembre.

En hojas soleadas y con aplicación de PBZ, se encontró que *MiFT* se expresó en la mayoría de los meses evaluados; aunque la expresión fue mayor en los meses de diciembre, enero y febrero. Lo anterior indica que PBZ favorece la expresión del gen probablemente mediante su efecto en la inhibición de síntesis de giberelinas; aunado a esto, los meses de diciembre a febrero fueron los más frescos comparados con septiembre, octubre y noviembre. Resultados similares se reportan en hojas de naranjo dulce 'Salustiana' donde PBZ estimuló la floración de genes homólogos a *FLOWERING LOCUS T*, *CiFT* (Muñoz-Fambuena *et al.*, 2012).

Resultados similares se obtuvieron con P-Ca, otro inhibidor de la síntesis de giberelinas, aunque la expresión fue menor comparada con PBZ. En hojas aplicadas con AG₃, la expresión fue prácticamente nula, lo que indica que este regulador inhibió la expresión de *MiFT*. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos en naranjo dulce 'Salustiana' (Muñoz-Fambuena *et al.*, 2012) y mango 'Irwin' (Nakagawa *et al.*, 2012), donde se reporta que giberelinas reprime la expresión de genes relacionados con floración como *CiFT* y *MiFT*, respectivamente.

Durante el periodo de floración, el porcentaje de brotes con flores fue mayor en el lado soleado cuando se aplicó PBZ, así como también con P-Ca, aunque el porcentaje fue menor comparado con PBZ. Lo que coincide con la expresión de *MiFT* en los dos biorreguladores, ya que al inhibir la síntesis de giberelinas favorecieron la expresión del gen encargado de la inducción floral como lo reporta Nakagawa *et al.* (2012). En lado poniente (soleado por la tarde) y norte (sombreo de 90% aproximadamente) el porcentaje del brotes con flores fue mínima, pero se tuvieron

flores en ambos lados cuando se aplicó PBZ y P-Ca, lo que indica que los biorreguladores indujeron, aunque en menor cantidad, la expresión del gen *MiFT* provocando la inducción de floración en este tipo de brotes y por lo tanto la presencia de flores.

No obstante, tanto en lado soleado como sombreado un gran número de brotes permaneció inactivo, lo cual podría deberse a que las condiciones ambientales durante noviembre, mes en que ocurre normalmente la inducción e iniciación floral en mango (Pérez *et al.*, 2009), no fueron adecuadas para floración (temperaturas arriba de 20°C y presencia de lluvia); pero, con la aplicación de inhibidores de giberelinas se logró, sobre todo con PBZ, un porcentaje adecuado de brotes florales en lado soleado pero solo en los meses donde la temperatura fue menor a 20°C. En brotes con AG₃, no hubo floración en ninguno de los lados evaluados, lo que coincidió con la falta de expresión de *MiFT*, lo que corrobora el efecto antagónico de AG₃ en la floración de mango y otros frutales como lo mencionan Nakagawa *et al.* (2012) en mango 'Irwin' y Muñoz-Fambuena *et al.* (2012) en naranjo dulce 'Salustiana'.

Conclusiones

La iniciación floral en yemas de mango 'Ataulfo' ocurrió con temperaturas entre 27-30/15-17°C (día/noche) y en brotes con dos a cuatro meses de edad. Lo que indica que bajo condiciones de trópico tanto la edad como temperatura es importante.

Los reguladores de crecimiento lograron reducir el tiempo en que se llevó a cabo el proceso de diferenciación, desde el alargamiento de eje principal y aparición de protuberancias meristemáticas en axilas de brácteas (iniciación) hasta la aparición de órganos florales.

Las aplicaciones de inhibidores de GAs bajo ambiente cálido, no promueven iniciación y diferenciación floral en año de la aplicación. Pero si ocurre iniciación en el mismo año bajo ambiente fresco.

Con PBZ se logra mayor porcentaje de yemas diferenciadas que dan lugar a una mayor cantidad de inflorescencias en época más temprana, lo que conduce a una floración adelantada.

Sin el uso de inhibidores de giberelinas la duración del proceso iniciación-diferenciación es mayor y la floración es errática.

En yemas apicales de mango, no se logró cuantificar la expresión de los genes *MAP1* y *MiGA_{20-ox}*, relacionados con la identidad floral del meristemo y metabolismo de giberelinas.

Se determinó que tanto luz, temperatura menor a 20°C y la aplicación de biorreguladores que inhiben la síntesis de giberelinas favorecen la expresión del gen *MiFT*, encargado de la inducción floral en mango y por lo tanto favorecen floración en mango 'Ataulfo'.

La aplicación de giberelinas inhibió la expresión de *MiFT* y por ende la brotación floral.

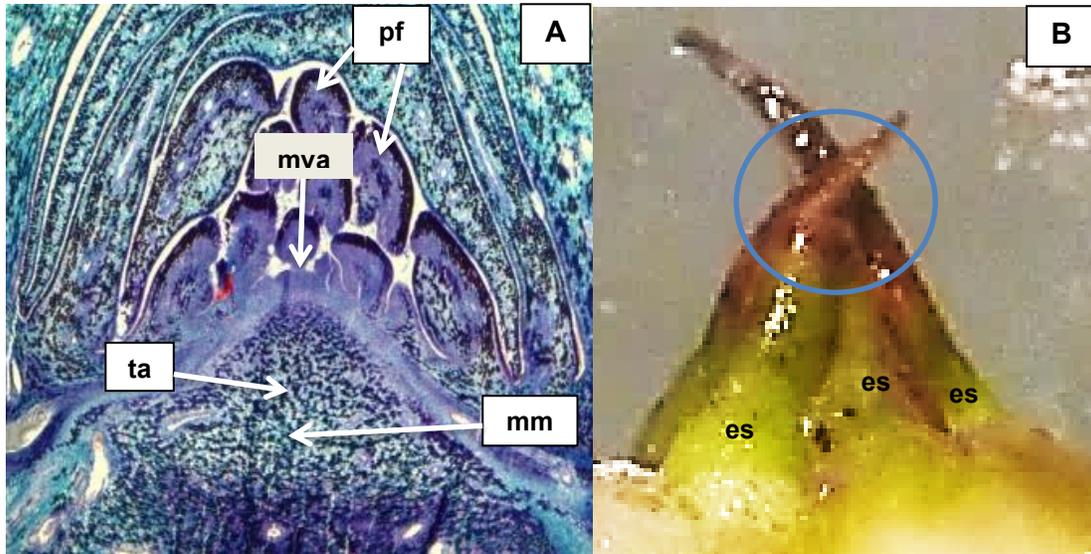


Figura 3.1. **A.** Estadio 1. Meristemo vegetativo apical (mva) en forma de cúpula y con primordios foliares (pf). Taninos (ta) y médula meristemática (mm). **B.** Yema de forma puntiaguda con escamas (es) completamente cerrada.

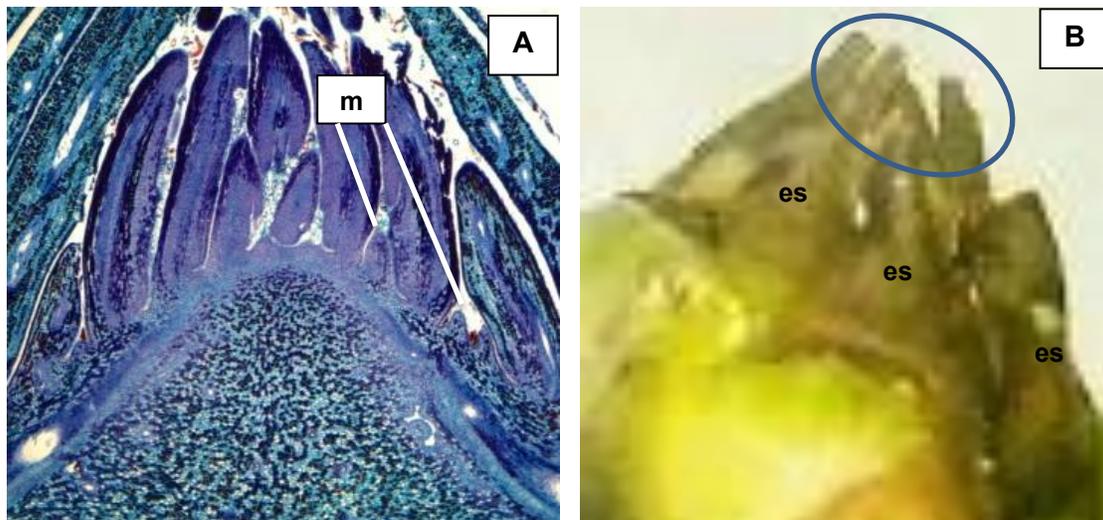


Figura 3.2. **A.** Estadio 2, iniciación floral, ligero alargamiento del meristemo apical con presencia de meristemas (m) en las axilas de las brácteas. **B.** Yema ensanchada en la base con ligera apertura de escamas (es) en el ápice.

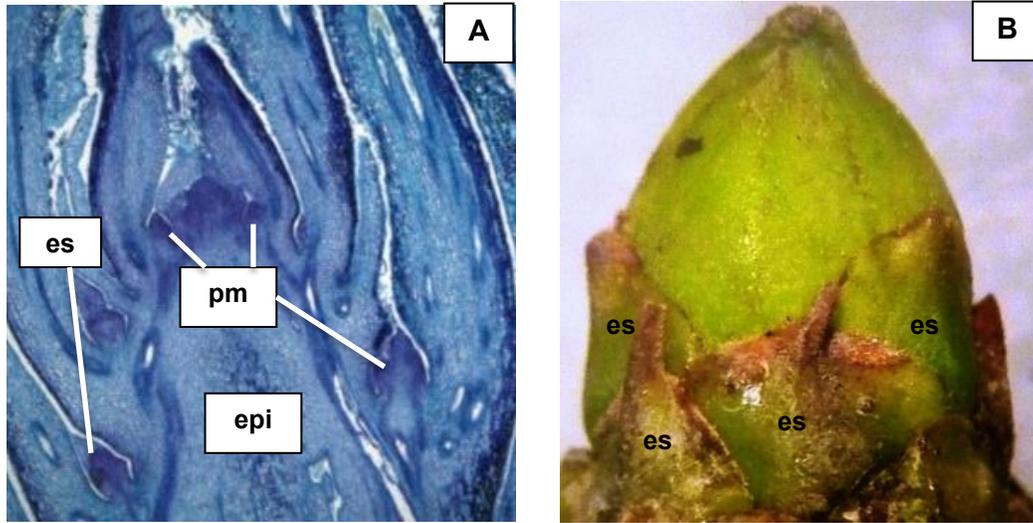


Figura 3.3 **A.** Estadio 3. Alargamiento del eje principal de la inflorescencia (raquis) (epi) sin taninos y formación de protuberancias meristemáticas (pm) de ejes secundarios en ápice y desarrollo de ejes secundarios (es) en la base con protuberancias meristemáticas (pm) de ejes terciarios. **B.** Externamente, yema hinchada de forma redonda con escamas (es) completamente separadas.

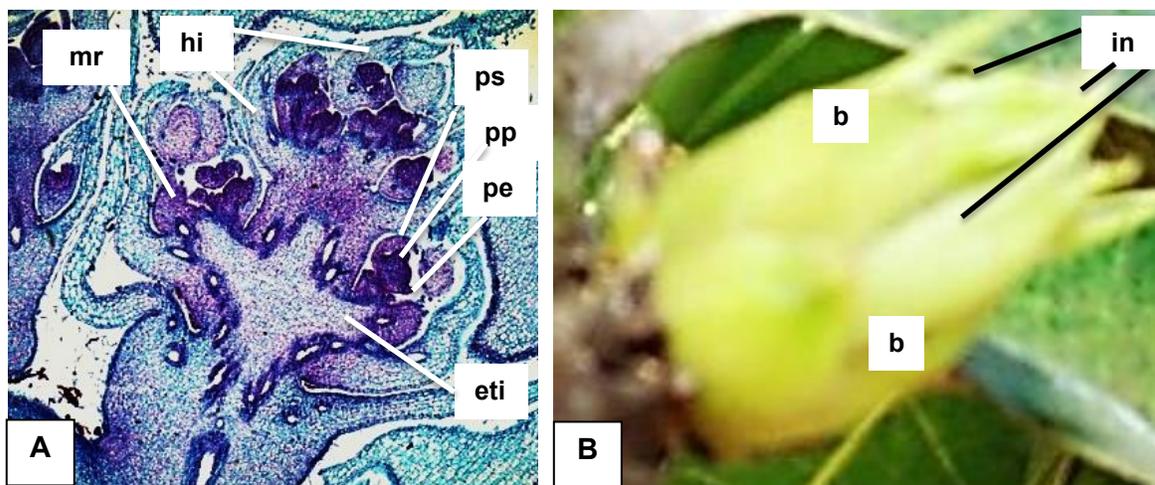


Figura 3.4. **A.** Estadio 4. Eje secundario presentando alargamiento de ejes terciarios de la inflorescencia (eti) y la formación de meristemos reproductivos (mr) en las axilas de los hipsófilos (hi) así como el desarrollo de primordios de sépalos (ps), primordios de pétalos (pp) y primordios de estambres (pe). **B.** Externamente la inflorescencia (in) emerge entre las brácteas (b).

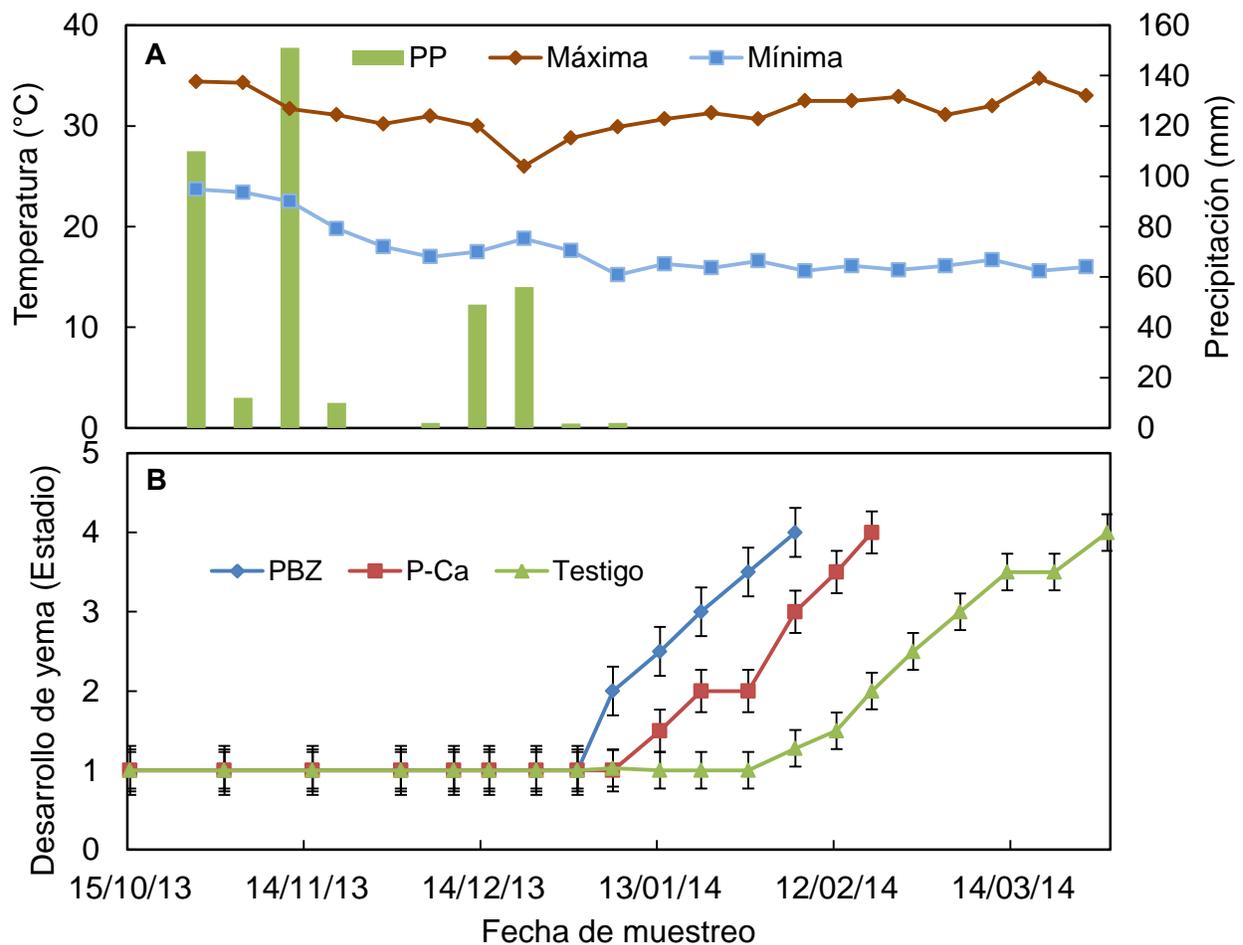


Figura 3.5. Temperatura y precipitación (A) y desarrollo de yema (B) en brotes apicales de mango 'Ataulfo' tratados con biorregulador de crecimiento. Estadio 1) Yema vegetativa; Estadio 2) yema en iniciación floral, Estadio 3) yema determinada a floración y Estadio 4) Yema diferenciada (B). Las barras en cada punto representan el promedio de 24 yemas por muestreo \pm error estándar. Ciclo 2013-2014.

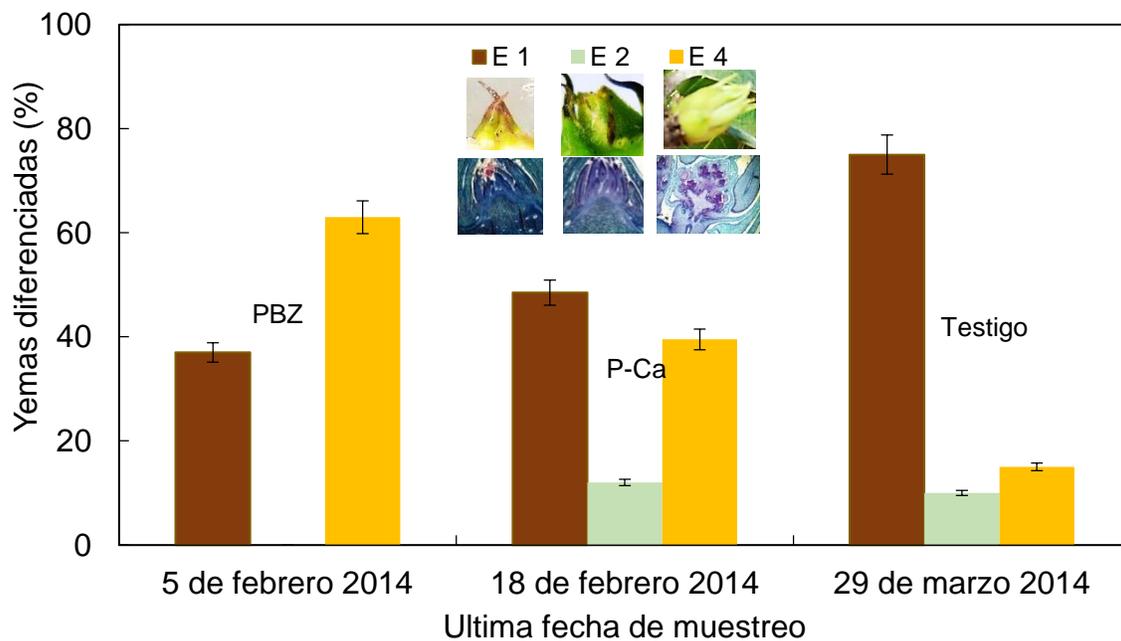


Figura 3.6. Porcentaje de yemas diferenciadas (Estadio 4) ocho días antes de inicio a floración. La fecha corresponde al momento en que se presentó E4. E1) Estadio 1, yema vegetativa. E2) Estadio 2, iniciación floral, E4) Estadio 4, yema diferenciada. Las barras en cada punto representan el promedio de 24 yemas por tratamiento \pm error estándar. Ciclo 2013-2014

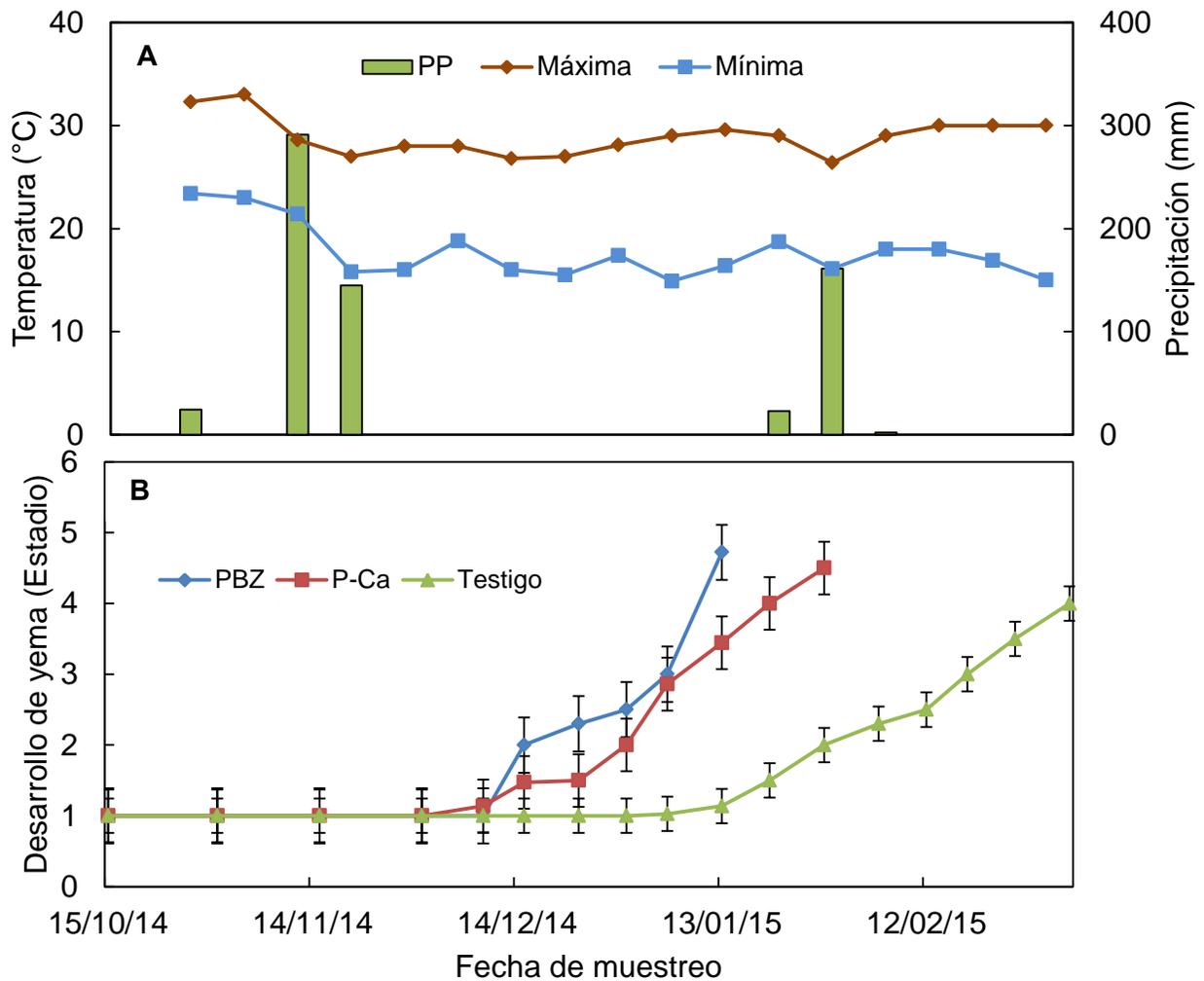


Figura 3.7. Temperatura y precipitación (A) y desarrollo de yema (B) en brotes apicales de mango 'Ataulfo' tratados con regulador de crecimiento. Estadio 1) Yema vegetativa; Estadio 2) yema en iniciación floral, Estadio 3) yema determinada a floración y Estadio 4) Yema diferenciada. Las barras en cada punto representan el promedio de 24 yemas por muestreo \pm error estándar. Ciclo 2014-2015.

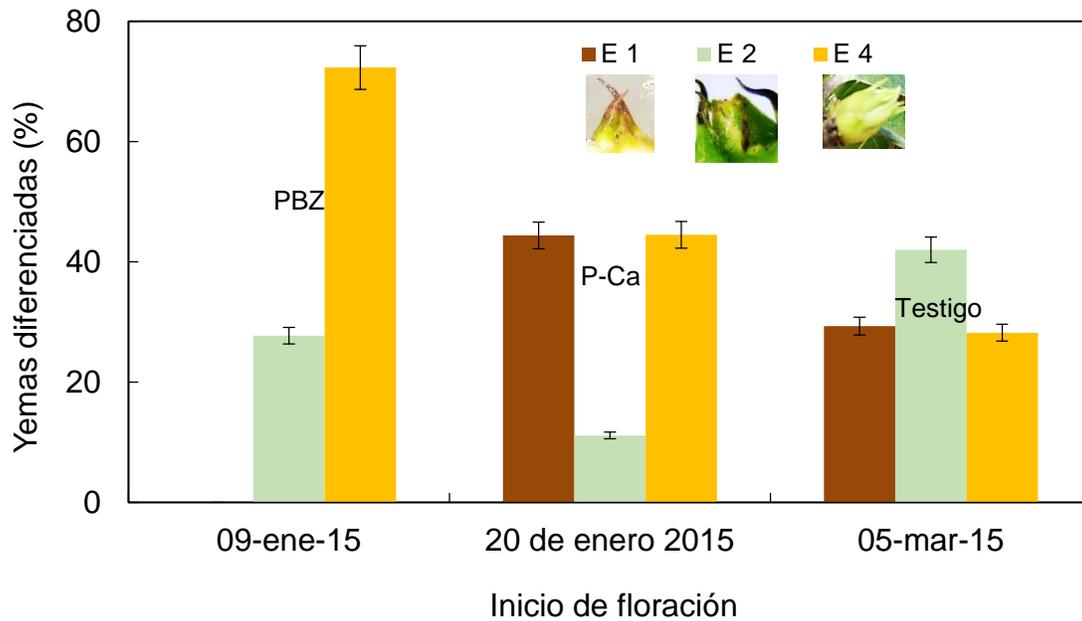


Figura 3.8. Porcentaje de yemas diferenciadas (E4) ocho días antes de inicio a floración. La fecha corresponde al momento en se presentó E4. E1) Estadio 1, yema vegetativa. E2) Estadio 2, iniciación floral, E4) Estadio 4, yema diferenciada. Las barras en cada punto representan el promedio de 24 yemas por tratamiento \pm error estándar. Ciclo 2014-2015

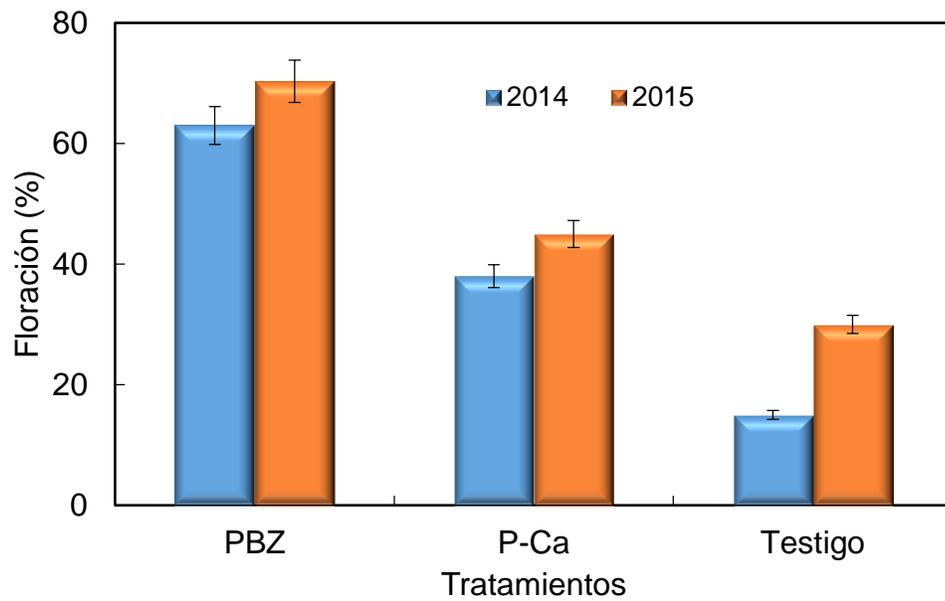


Figura 3.9. Porcentaje de floración en árboles tratado con biorreguladores de crecimiento. Las barras en cada punto representan el promedio de 6 árboles por tratamiento \pm error estándar.

Cuadro 3.1. Cantidad y calidad de RNA y cDNA en Hojas de mango 'Ataulfo'

Tratamiento	RNA (ng/μl)	Relación 260/280*	cDNA (ng/μl)	Relación 260/280 ^z
PBZ 2500 1X	44.7	1.96	2103.6	1.87
P-Ca 500 3X	42.3	1.95	2025.5	1.87
AG ₃ 200 1X	36.1	1.92	2006.7	1.86
Testigo	33.6	1.89	2006.3	1.85
CV	52.9	4.37	5.56	1.81

^z Longitud de onda para absorción de los ácidos nucleicos/proteínas (Luz UV)

Cuadro 3.2. Cantidad y calidad de RNA y cDNA en yemas de mango 'Ataulfo'

Tratamiento	RNA (ng/μl)	Relación 260/280*	cDNA (ng/μl)	Relación 260/280 ^z
PBZ 2500 1X	13.3	1.76	2085.3	1.66
P-Ca 500 3X	6.9	1.29	1960.0	1.58
AG ₃ 200 1X	6.1	1.42	1680.4	1.58
Testigo	8.5	1.35	1905.6	1.7
CV	67.8	20.62	14.24	9.04

^z Longitud de onda para absorción de los ácidos nucleicos/proteínas (Luz UV)

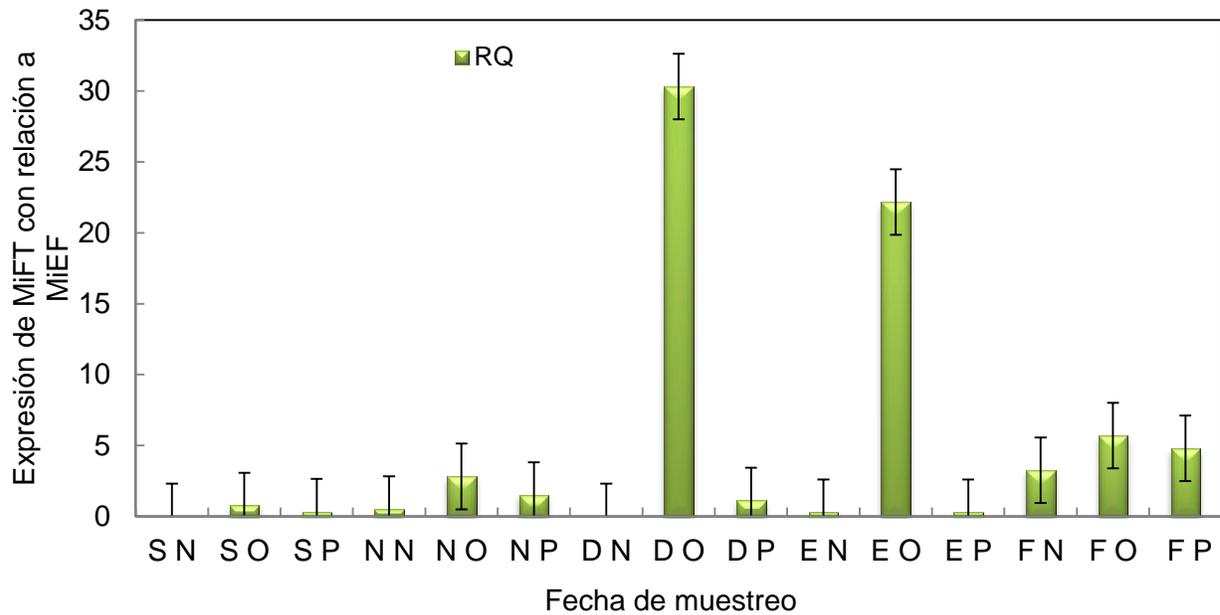


Figura 3.10. Expresión de *MiFT* con relación a *MiEF* en hojas de mango tratadas con PBZ. Las barras en cada punto representan el promedio de 36 yemas por tratamiento \pm error estándar. SN, septiembre lado norte; SO, septiembre lado oriente; SP, septiembre lado poniente; NN, noviembre lado norte; NO, noviembre lado oriente; NP, noviembre lado poniente; DN, diciembre lado norte; DO, diciembre lado oriente; DP, diciembre lado poniente; EN, enero lado norte; EO, enero lado oriente; EP, enero lado poniente; FN, febrero lado norte; FO, febrero lado oriente y FP, febrero lado poniente.

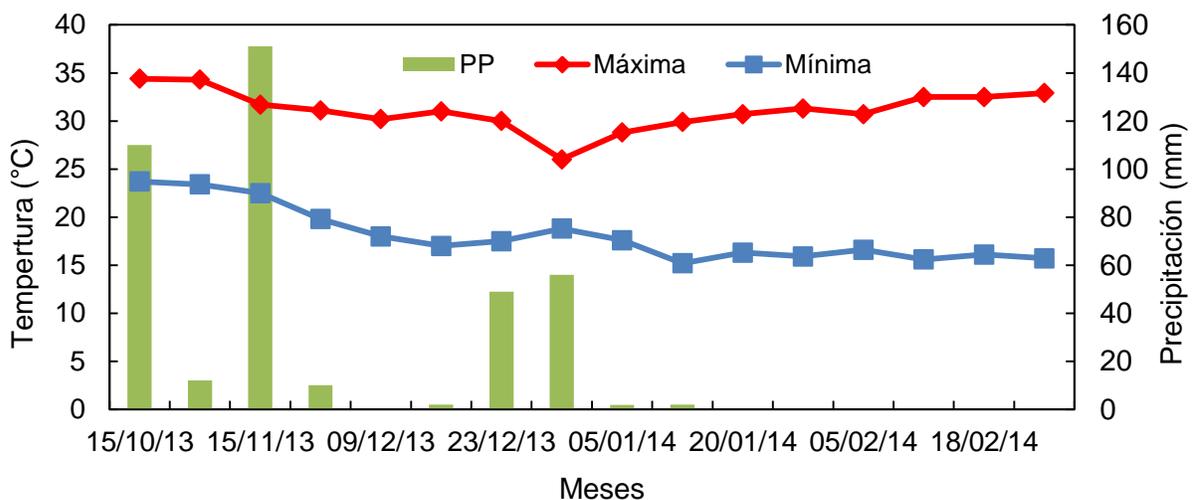


Figura 3.11. Temperatura máxima, mínima y precipitación presentadas durante el periodo de inducción, iniciación y brotación floral en mango 'Ataulfo'.

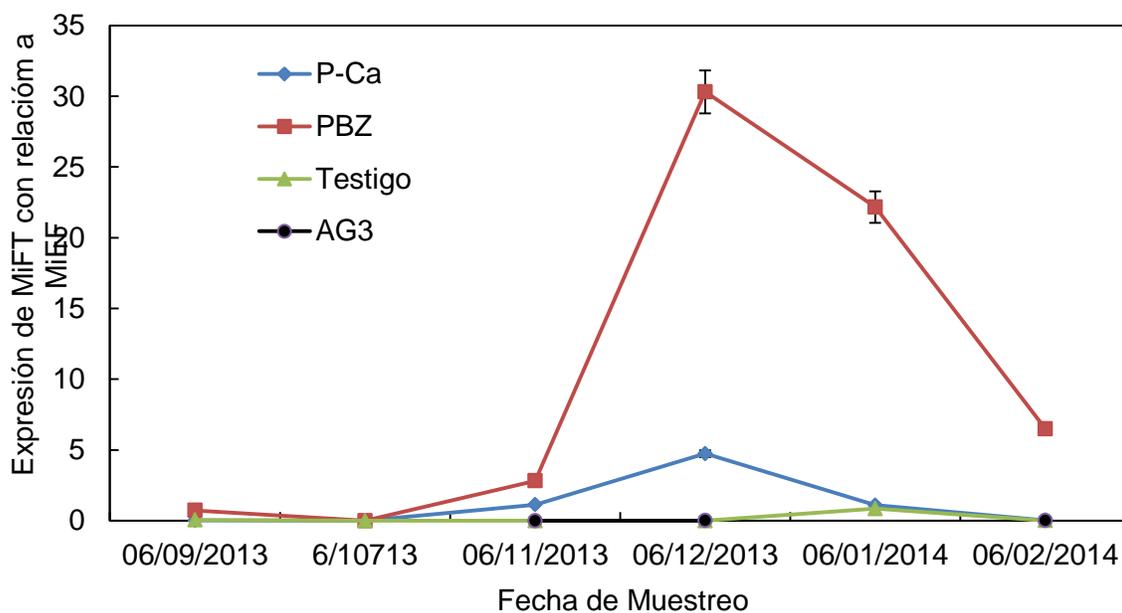


Figura 3.12. Expresión relativa de *MiFT* respecto a *MiEF* en hojas de mango 'Ataulfo' con y sin biorregulador de crecimiento. Las barras en cada punto representan el promedio de 36 yemas por tratamiento \pm error estándar.

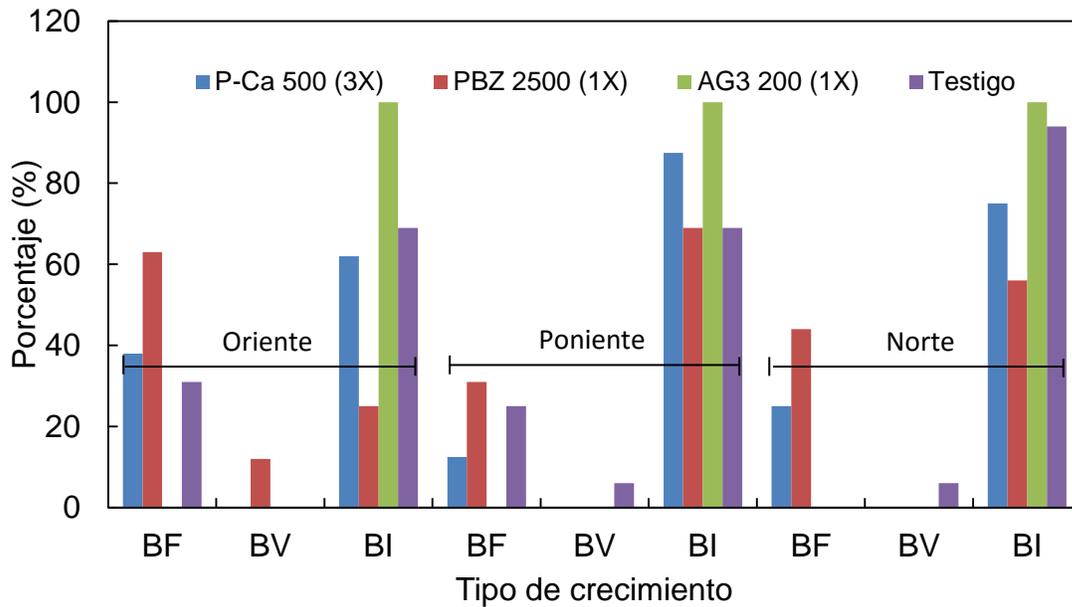


Figura 3.13. Porcentaje y tipo de crecimiento emergido durante el periodo de floración en brotes de mango 'Ataulfo' tratados con biorregulador y sin tratar y ubicados en diferente orientación en el árbol. 2014. BF, brotación floral; BV brotación vegetativa; BI brote inactivo

CAPÍTULO IV. BIORREGULADORES DE CRECIMIENTO EN BROTAÇÃO FLORAL

Introducción

La producción irregular en mango se atribuye a variación en floración y en zonas subtropicales a retención del fruto (Whiley, 1993). La variación en la cantidad de flores puede variar de un año a otro, entre árboles del mismo año y entre brotes en el mismo árbol. Aunque el factor aceptado para inducir floración es temperatura ($\approx 15-20/10-15^{\circ}\text{C}$) no garantiza que ocurra iniciación floral debido a las interacciones con el crecimiento vegetativo (Wilkie *et al.*, 2008). El crecimiento vegetativo en mango ocurre por flujos, el número de los cuales aumenta conforme aumenta la temperatura (Whiley *et al.*, 1989; Davenport, 2007). La época de desarrollo del flujo es importante pues tanto desarrollo vegetativo como reproductivo ocurren solo en flujos maduros. La época de desarrollo como la sincronización de los mismos se puede lograr con poda en la época adecuada, lo cual intensifica la floración (Yeshitela *et al.*, 2005; Vázquez *et al.*, 2009a). Para la maduración del flujo se ha dependido fuertemente del biorreguladores de crecimiento como paclobutrazol (Singh y Bhattacharjee, 2005; Rebolledo *et al.*, 2008; Arzani *et al.*, 2009; Vázquez *et al.*, 2009b; Pérez-Barraza *et al.*, 2011; Martínez-Fuentes *et al.*, 2013; Samani, 2014), inhibidor de las enzimas de biosíntesis de giberelinas (GAs) en la etapa II (Hedden and Graebe, 1985; Rademacher, 2000) y prohexadiona de calcio (P-Ca). P-Ca, tiene una estructura parecida al ácido 2-oxoglutarico, el sustrato de dioxigenasas, que cataliza las reacciones de la etapa III de la formación de GAs. Específicamente, P-Ca bloquea GA_{20} 3 β -hidroxilasa inhibiendo la formación de giberelinas biológicamente activas y formando precursores inactivos (Rademacher, 2000; Rademacher *et al.*, 2006). P-Ca pudiera también actuar como inhibidor de la síntesis de etileno (Rademacher *et al.*, 2006; Rademacher, 2014), lo cual pudiera favorecer amarre de fruto al evitar la abscisión. Interfiere también en el metabolismo de flavonoides (Rademacher, 2014).

En frutales templados caducifolios, P-Ca se ha aplicado en dosis de 50 a 250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ simples o repetidas durante y después de floración (2 y 4X, a intervalos de 14-20 días) con resultados positivos en reducción de la longitud del brote (18-50%) (Costa

et al., 2006; Ramírez *et al.*, 2006; Cline *et al.*, 2008; Kiessling-Dvison *et al.*, 2008; Einhorn *et al.*, 2014), incremento en amarre y producción de fruto (21-63, 22%, respectivamente) en manzano ‘Golden Delicious/MM106’ (Ramírez *et al.*, 2006) y producción en pera ‘Williams’ y manzano ‘Fuji’, 50 y 40%, respectivamente (Costa *et al.*, 2006). Aunque en pera ‘Blanquilla’ (Asin *et al.*, 2007) y ‘D’Anjou’ (Einhorn *et al.*, 2014) no se encontró efecto en intensidad de floración y rendimiento.

En frutales tropicales y subtropicales aparentemente la respuesta a P-Ca varía con la especie y cultivar. En aguacate ‘Hass’, se obtuvo una disminución en el crecimiento vegetativo de brotes del flujo de primavera con P-Ca 1 y 1.4% (10 – 20%, respectivamente) al aplicarlo en plena floración (90%), pero no hubo efecto en el amarre de frutos (Mandemaker *et al.*, 2005). En limón ‘Eureka’ con una aplicación de 250 y 500 mg·L⁻¹ de P-Ca un día después de la poda (mediados de mayo), se redujo 30 % la longitud de los brotes, mientras que en naranja ‘Washington Navel’ no hubo el mismo efecto (Garner *et al.*, 2010). En limón, 500 mg·L⁻¹ de P-Ca redujo la producción total de fruto (kg y núm. de frutos·árbol⁻¹) así como la producción de frutos de tamaño comercial. En aguacate ‘Hass’ encontraron un incremento de 26% en amarre de frutos con tres aplicaciones de 250 mg·L⁻¹ de P-Ca durante floración y amarre; mientras que dos aplicaciones de 150 mg·L⁻¹ en floración incrementó la producción acumulada de frutos de tamaño comercial sin reducir la producción total de fruta con relación al testigo.

En mango ‘Kent’, la combinación de P-Ca (1.5 g de i.a.·planta⁻¹) con PBZ (3.0 g i.a.·planta⁻¹) aplicado 40 días después de la poda fue efectiva para reducir crecimiento vegetativo en 67% pero no tuvo efecto en floración o producción (Do Carlo-Mouco *et al.*, 2011). En mango ‘BaladiAbuZaid’ y ‘BaladiBurai’ se adelantó floración 60 días con PBZ y 40 con P-Ca aplicado después de cosecha (18 de julio) (Abdel Rahim *et al.*, 2011)’. Dosis de P-Ca entre 75 y 500 mgL⁻¹ tienen respuestas diferentes en crecimiento vegetativo, amarre de frutos, floración y rendimiento. La respuesta depende de la especie (clima templado o tropical), número de aplicaciones y etapa fenológica. Por lo anterior, el objetivo del estudio fue determinar dosis, número y época de aplicación de P-Ca para reducir el crecimiento del brote, adelantar y/o uniformizar brotación floral y aumentar producción de fruto en mango ‘Ataulfo’.

Materiales y Métodos

Los estudios se realizaron en los ciclos de producción 2012-2013 y 2013-2014 en huertos comerciales de mango 'Ataulfo'/criollo regional, ubicados en los municipios de Tepic y San Blas, Nayarit. Los huertos se manejaron con riego por gravedad (uno cada mes a partir de febrero hasta abril), poda (despunte de aproximadamente 50 cm) y fertilización con 2 kg de Triple 17 por árbol al inicio de la temporada de lluvias (junio) y 4 kg de fertilizante orgánico (gallinaza) por árbol aplicado en septiembre (huertos San Blas). En el huerto de Tepic la fertilización fue con 3 kg de triple 17 después de cosecha (julio) y 4 kg de fertilizante orgánico en septiembre.

En 2012-2013 (año on), se establecieron tres experimentos para determinar dosis, número y época de aplicaciones. En los tres experimentos los árboles fueron podados después de cosecha (23 de julio de 2012). Experimento 1 (E1), se evaluaron las dosis de 150, 250 y 500 mg·L⁻¹ de P-Ca, cada dosis en cuatro aplicaciones, 4X, 0+10+20+30 días después de la poda (ddp). Se usaron árboles de 10 años de edad establecidos a 7x5 m. Experimento 2 (E2), se evaluaron las dosis anteriores y se redujo el número de aplicaciones a tres. Las aplicaciones iniciaron 30 ddp (brotes de 5-10 cm de longitud) y posteriormente a 45 y 60 días. La edad de los árboles fue de 8 años establecidos a 5 X 5 m. Experimento 3 (E3), se evaluó una sola dosis de P-Ca (500 mg·L⁻¹) aplicada, 1, 1+10 y 1+10+20 ddp. La edad de los árboles fue de 15 años establecidos a 9 X 9 m.

En 2013-2014 (año off), se estableció el experimento 4 (E4) con base a los resultado del ciclo anterior. Los tratamientos fueron 150, 500 (3X, 30+45+60 ddp) y 1500 (1X, 30 ddp) mg·L⁻¹ de P-Ca. Los árboles fueron de 15 años de edad establecidos a 9 x 9 m y se podaron el 25 julio de 2013.

En todos los experimentos se incluyó el tratamiento estándar de PBZ 2500 mg·L⁻¹; (1X, 30 ddp) y un testigo. Las soluciones de P-Ca (Apogee®) se prepararon con agua corriente y se usó 1 ml·L⁻¹ de surfactante Inex®. P-Ca se aplicó al follaje a punto de goteo mediante bomba aspersora motorizada. PBZ (Austar®) fue aplicado al suelo, bañando el tallo principal a una altura de 30 cm de la base del suelo. Los árboles testigo fueron asperjados con agua + surfactante.

En 2012 las condiciones ambientales de septiembre a diciembre fueron las siguientes: Temperatura máxima y mínima mensual de ≈ 32 y 22°C , similar en los cuatro meses. La precipitación fue de 355 y 95 mm durante septiembre y primera quincena de octubre, respectivamente, no se presentaron lluvias en los meses de noviembre y diciembre. Para 2013, de septiembre a diciembre, la temperatura máxima promedio fue de 32, 31.6, 33 y 29.7°C , respectivamente y mínima de 24, 23, 25 y 27°C . La precipitación fue de 352, 117, 141 y 102 mm mensuales, respectivamente.

En todos los experimentos se evaluaron las siguientes variables:

Longitud de brote. Se seleccionaron cuatro brotes vegetativos (BV) por árbol emergidos después de la poda y se midió la longitud de cada flujo (dos flujos) mediante un vernier digital (Control Company). El crecimiento total del BV fue la suma de dos flujos.

Brotación floral. Se contabilizaron los días transcurridos desde la última aplicación de P-Ca (23 de septiembre 2012; 11 de septiembre 2013) hasta el inicio de la floración (5% de floración en la copa del árbol; entre 3 y 28 de enero 2013; 28 dic 2013 – 31 enero 2014) y plena floración (80% de floración; entre 19 enero y 25 febrero 2013; 24 de enero y 28 febrero 2014). El porcentaje de floración se evaluó registrando semanalmente el porcentaje de inflorescencias que cubrían la copa del árbol, a partir del 5% hasta plena floración.

Número de frutos. Para evaluar el número de frutos se seleccionaron cuatro inflorescencias por árbol y se contabilizó el número de frutos polinizados (POL) y partenocárpicos (PRT) de 1-2 cm de diámetro (tamaño canica) a los 45 DDF, período en el que sucedió la mayor caída de fruto, y el número de frutos·inflorescencia⁻¹ hasta madurez fisiológica (15 días antes de cosecha).

Producción de fruto. La producción se evaluó al momento de la cosecha, registrando los kg de fruta·árbol⁻¹; se utilizó una báscula digital marca Ohaus.

El diseño experimental fue completamente al azar en todos los experimentos y ciclo productivos. En cada experimento se evaluaron 5 tratamientos con seis repeticiones y un árbol como parcela útil. Se efectuó análisis de varianza de los resultados y se usó la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$) para comparación de medias. Se utilizó el programa SAS versión 9.2.

Resultados

Ciclo 2012-2013

Se registraron dos flujos de crecimiento en todos los tratamientos incluyendo el testigo. En el primer flujo (del 8 al 30 de agosto) P-Ca redujo el crecimiento vegetativo entre 18 y 29% respecto al tratamiento con PBZ y el testigo. En el segundo flujo (del 28 de septiembre al 18 de octubre) no hubo diferencias entre los tratamientos y el testigo (Figura 4.1A). El crecimiento total fue similar entre los tratamientos con P-Ca (59, 56 y 56 cm) comparado con PBZ y testigo (63 y 67 cm, respectivamente). En E2, P-Ca redujo el crecimiento vegetativo entre 18 y 37% en el primer flujo (10 – 31 agosto) y de 21 a 44% en el segundo (28 sep. – 31 Oct), pero sólo P-Ca 500 mg·L⁻¹ redujo un 35% en la longitud total (Figura 4.1B). En E3, no se encontraron diferencias entre tratamientos y testigo en la longitud total (Figura 4.1C).

En un año on, se encontraron diferencias significativas en los días a plena floración ($Pr = 0.0278$) y porcentaje de la misma ($Pr = <0.0001$) en E1, pero en E2 y E3 no hubo diferencia entre tratamientos. En E1, plena floración se presentó de ≈ 186 a 213 días después de la poda (ddp), sólo los tratamientos 500 mg·L⁻¹ de P-Ca (4X, 0+10+20+30 ddp) y 2500 mg·L⁻¹ de PBZ (1X, 30 ddp) fueron diferentes al testigo (Cuadro 4.1). En el mismo Cuadro se observa que el porcentaje de floración varió de 39 a 80% en E1, de 81 a 87 en E2 y de 79 a 93 en E3.

Durante el año on sólo en E3, se encontraron diferencias significativas en número inicial de frutos POL y PRT ($Pr = <0.0001$, 0.0171, respectivamente) y número final de frutos POL ($Pr = <0.0001$). El número inicial de frutos POL varió de 1.6 a 2.8 frutos·inflorescencia⁻¹, mientras que el de frutos PRT de $\approx 4 - 6$ frutos. En número final de frutos POL fue de 1.6 a 2 frutos·inflorescencia⁻¹ (Cuadro 4.2)

La producción de fruto fue significativa en E1 ($Pr = 0.0041$) y E3 ($Pr = 0.0050$). Durante un año on, en E1 los árboles con P-Ca, 500 mg·L⁻¹ (4X, 0+10+20+30 ddp) produjeron 63 kg y 75 kg con PBZ, 2500 mg·L⁻¹ (1X, 30 ddp), mientras que el testigo produjo 38 kg. En E3, la producción fue de 74 y 80 kg·árbol⁻¹ en tratamientos con 500 mg·L⁻¹ de P-Ca (1 y 3X entre 1-20 ddp, respectivamente) y un rendimiento similar con PBZ (80 kg), en el testigo los árboles produjeron 47 kg (Figura 4.2). Se tuvo un

aumento en la producción de fruto-árbol⁻¹ de 40 – 50% con P-Ca 500 mg·L⁻¹ (4X) y PBZ 2500 (1X), respectivamente con relación al testigo. En E3 se obtuvieron resultados similares a E1 con tres aplicaciones de P-Ca 500 mg·L⁻¹ y PBZ, el incremento logrado fue de 36-40% en los diferentes tratamientos respecto al testigo.

Ciclo 2013-2014

El primer flujo vegetativo se presentó del 17 de septiembre al 3 de octubre de 2013, mientras que el segundo inició el 19 de nov y terminó el 11 de diciembre. No hubo diferencias estadísticas entre tratamientos en los dos flujos presentados ni en longitud total (Figura 4.3).

Respecto a brotación floral, en E4, se encontraron diferencias estadísticas en plena floración (Pr = 0.0024) y porcentaje (Pr = 0.0040). En un año off, plena floración se alcanzó entre 135 y 170 días. El porcentaje de floración fue de 55 a 92% (Cuadro 4.3).

La producción de fruto en un año off fue significativa con Pr = 0.0092. En E4, la producción varió de 149 a 240 kg·árbol⁻¹, los tratamientos con reguladores tuvieron mayor producción de fruta pero sólo P-Ca (1500 mg·L⁻¹, 1X) y PBZ (2500 mg·L⁻¹) fueron estadísticamente diferentes al testigo (Figura 4.4). En año off, la producción obtenida con P-Ca 1500 (1X a 30ddp) y PBZ significó un incremento de aproximadamente 3% en ambos tratamientos respecto al testigo.

Discusión

La baja respuesta de P-Ca para disminuir crecimiento vegetativo en el segundo flujo pudo deberse a que el producto tiene una vida media de 14 días en planta (Rademacher *et al.*, 2006) y la última aplicación había sido realizada ≈ 35 días antes. En E2, P-Ca probablemente continuaba activo en el segundo flujo ya que la última aplicación se había realizado apenas 10 días antes (22 de septiembre). En E3 se observó una ligera reducción del brote en el primer flujo, pero en el segundo la longitud total fue similar entre los tratamientos incluyendo el testigo, probablemente influyó la dosis, la edad del árbol y el periodo (35 días) entre la última aplicación de P-Ca y la aparición del segundo flujo.

Los resultados coinciden con los obtenidos en frutales templados como manzano al aplicar P-Ca después de floración (2 y 4X, a intervalos de 14-20 días) con resultados positivos en reducción de la longitud del brote (18-48%) (Ramírez *et al.*, 2006; Cline *et al.*, 2008; Kiessling-Dvison *et al.*, 2008) y pera al aplicar P-Ca durante y después floración (4X, a intervalos de 20 días) disminuyendo la longitud del brote de 24-50% (Asin *et al.*, 2007; Einhorn *et al.*, 2014) aunque con dosis más bajas ($50 - 250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) que las utilizadas en mango 'Ataulfo'. Menores crecimientos también se han reportado con PBZ en pera (Asin *et al.*, 2007), en nuestro estudio los mejores resultados se obtuvieron con P-Ca probablemente por el uso de dosis más altas que las utilizadas en pera.

El efecto de P-Ca radica en inhibir la síntesis de GAs activas al bloquear GA_{20} 3 β -hidroxilasa promoviendo la formación de GAs inactivas (Rademacher, 2000; Rademacher *et al.*, 2006). En Manzano con $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de P-Ca, se identificaron GAs inactivas como A_9 , A_{20} , A_{51} y A_{53} , mientras que en los brotes sin P-Ca identificaron GAs activas como A_1 , A_4 y A_7 (Ramírez *et al.*, 2006). Aunque en nuestro estudio no se realizó la identificación de GAs, la reducción en el crecimiento total por la acción del P-Ca fue de 35%. En frutales subtropicales, los resultados fueron efectivos en reducir crecimiento de brotes después de poda en primavera especies como limón 'Eureka' pero no en naranjo 'Washington Navel' (Garner *et al.*, 2010) con 250 y $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en aplicaciones simples. En aguacate 'Hass' si hubo efecto con $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de P-Ca en

tres aplicaciones (Mandemaker *et al.*, 2005; Garner *et al.*, 2010), lo que coincide con los resultados de este estudio al tener mayor reducción en aplicaciones repetidas de P-Ca (500 mg·L⁻¹), lo que indica que en frutales subtropicales y tropicales la dosis debe ser mayor que en templados por el crecimiento vigoroso que presentan estas especies. Por otro lado, en mango 'Kent', se encontró una disminución del crecimiento vegetativo con P-Ca combinado con PBZ, pero no hubo respuesta al aplicarlo solo (Do Carlo-Mouco *et al.*, 2011).

En un año off, la longitud de los brotes fue similar en ambos flujos, aunque en el primero se observó un menor crecimiento con los reguladores, este no fue diferente al testigo. La longitud total en este ciclo fue similar entre los tratamientos. Lo anterior puede atribuirse a que la presencia de temperaturas cálidas (>30°C) y periodos de lluvia que se prolongaron de junio hasta diciembre, favorecieron el crecimiento de los brotes. En mango el crecimiento vegetativo ocurre por flujos y el número de ellos aumenta conforme aumenta temperatura (Whiley *et al.*, 1989, Davenport, 2007).

Durante un año on, en E2 y E3 no hubo adelantos significativos en días a plena floración respecto al testigo y la floración fue abundante en todos los tratamientos. Para octubre de 2012, los brotes vegetativos en todos los tratamientos incluyendo testigo se encontraban con la edad fisiológica requerida para ser inducidos. En mango, la floración está regulada por la edad del flujo vegetativo (Davenport, 2003). En E1, con dosis altas de P-Ca (500 mg·L⁻¹, 0+10+20+30 ddp) y PBZ (2500 mg·L⁻¹), se logró un adelanto en la floración con relación al testigo de aproximadamente 21 y 28 días, respectivamente. El porcentaje de floración se incrementó en todos los tratamientos, aunque con PBZ fue mayor (51%) respecto al testigo (39%). La respuesta obtenida con PBZ coincide con numerosos estudios que avalan su efecto en adelantar y aumentar floración en muchos cultivares de mango incluyendo 'Ataulfo' (Singh y Bhattacharjee, 2005; Rebolledo *et al.*, 2008; Arzani *et al.*, 2009; Vázquez *et al.*, 2009b; Pérez-Barraza *et al.*, 2011; Martínez-Fuentes *et al.*, 2013; Samani, 2014). Aunque hay pocos reportes en mango con relación al uso de P-Ca, nuestros resultados coinciden con los reportados por Abdel Rahim *et al.* (2011) pero en variedades diferentes a 'Ataulfo'; no obstante, Do Carlo-Mouco *et al.* (2011) no encontraron respuesta en floración en mango 'Kent'. Adil *et al.* (2011) indican que el efecto en floración encontrado en P-Ca

estuvo relacionado con un incremento en el contenido de citocininas en yemas y hojas durante el periodo de inducción floral, mientras que los niveles de giberelinas y citocininas disminuyeron en el mismo periodo por efecto tanto de P-Ca como de PBZ favoreciendo floración. En nuestro estudio, el efecto en floración con P-Ca puede estar relacionado con la reducción en crecimiento vegetativo encontrado con 500 mg·L⁻¹ (4X, 1+10+20+30 ddp), lo que sugiere niveles bajos de giberelinas que favorecieron floración.

A pesar de un año off, se logró un adelanto en la floración en árboles con 500 (3X, 30+45+60) y 1500 (1X) mg·L⁻¹ de P-Ca de 20 y 35 días, respectivamente con relación al testigo. PBZ (2500 mg·L⁻¹; 1X) adelantó 25 días. Este último tratamiento y P-Ca (1500 mg·L⁻¹) fueron diferente al testigo. Las dosis altas de P-Ca y PBZ incrementaron el porcentaje de floración, pero solo P-Ca 1500 mg superó estadísticamente al testigo, el incremento fue de aproximadamente un 40%.

En un año off, que resultó en un floración irregular en la mayoría de los cultivares de mango en el estado de Nayarit, incluyendo 'Ataulfo', dosis altas de P-Ca lograron igualar el efecto de PBZ en adelanto y porcentaje de floración. Por el contrario, dosis bajas de P-Ca (150 mg·L⁻¹, 3X) no fueron capaces de mejorar floración por lo que árboles con este tratamiento presentaron una floración irregular similar a la obtenida en los testigo.

A los 45 días después de plena floración todas las inflorescencias con regulador tuvieron más frutos POL que los testigos; lo que significó un incremento de 27 – 43% respecto al testigo, pero solo P-Ca 500 mg·L⁻¹ (3X, 30+45+60 ddp) y PBZ 2500 mg·L⁻¹ (1X, 30 ddp) incrementaron el número final poco antes de cosecha (15 días), lo que se reflejó en un 38%. Respecto a frutos PRT, los árboles con P-Ca 500 mg·L⁻¹ (3X) y PBZ (1X) produjeron menor número de frutos con relación al testigo. Los resultados obtenidos coinciden en parte con otros autores en especies como manzano (Ramírez *et al.*, 2006) y en tropicales como los obtenidos en aguacate 'Hass' por Garner *et al.* (2010). No obstante, existen opiniones contrastantes al respecto. Por un lado, en templados como manzano se reporta un incremento en amarre de fruto (Ramírez *et al.*, 2006), mientras que en pera 'Blanquilla' y 'D'Anjou' no encontraron efecto en esta variable (Asin *et al.*, 2007; Einhorn *et al.*, 2014). En subtropicales como aguacate 'Hass'

Mandemaker *et al.* (2005) no tuvieron efecto en amarre de fruto; mientras que Garner *et al.* (2010) en el mismo cultivar, lograron un incremento en amarre de frutos cuando se aplicó durante floración y amarre sugiriendo que el aumento pudo haber sido al inhibir la síntesis de etileno, otro efecto inhibitorio de P-Ca según Rademacher *et al.* (2006) y Rademacher (2014), aunque no fue estudiado en aguacate. En mango, 'BaladiAbuZaid', 'BaladiBurai' y 'Kent' no se reporta efecto en esta variable (Abdel Rahim *et al.*, 2011; Do Carlo-Mouco *et al.*, 2011). En este estudio se observó una tendencia a una menor producción de frutos PRT en árboles con tres aplicaciones de P-CA ($500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y en aquellos con una sola de PBZ ($2500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), lo que indica una producción de frutos de mayor valor comercial.

La mayor producción obtenida en E1 y E3 estuvo relacionada con el aumento en el porcentaje de floración y el amarre de frutos logrado por los mismos tratamientos, debido al efecto de los biorreguladores probablemente inhibiendo síntesis de giberelinas y modificando translocación de asimilados del ápice hacia otros puntos como frutos en desarrollo (Ramírez, 2006). Respecto a P-Ca, trabajos realizados en mango 'Kent', 'BaladiAbuZaid' y 'BaladiBurai', no reportan efecto en producción (Abdel Rahim *et al.*, 2011; Do Carlo-Mouco *et al.*, 2011). No obstante, los resultados obtenidos coinciden con lo reportado en templados como manzano (Costa *et al.*, 2006; Ramírez *et al.*, 2006) aunque con menor dosis (150 y $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 1X) que las usadas en mango 'Ataulfo' y con lo reportado en aguacate 'Hass' por Garner *et al.* (2010) con dos y tres aplicaciones de 150 y $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de P-Ca, respectivamente. En naranjo 'Washington Navel' se reporta una reducción en la producción y tamaño de fruto con una aplicación de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, contrario a lo obtenido en mango 'Ataulfo' con dosis más altas, lo cual pudiera deberse a un mayor requerimiento de P-Ca para que se manifieste el efecto en 'Ataulfo' por ser una especie tropical. Los resultados con PBZ corroboran el efecto obtenido y reportado en muchos cultivares de mango incluyendo 'Ataulfo' como se mencionó anteriormente. Con los resultados obtenidos en el ciclo 2013-2014, se confirmó el efecto positivo de PBZ en favorecer floración y producción en fruta en un año off, y queda claro que P-Ca igualó y en ocasiones superó ese efecto.

Conclusiones

Tres aplicaciones de P-Ca ($500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 30+45+60 ddp) reducen el crecimiento vegetativo total (suma de dos flujos) en mango 'Ataulfo'. Esta misma dosis o una sola aplicación ($1500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 30 ddp) es suficiente para igualar o incluso superar en algunos casos el efecto de PBZ en intensidad y época de floración, logrando floraciones abundantes y anticipadas. En un año off, el efecto en floración es mayor con cualquiera de los biorreguladores.

Existe una tendencia a reducir la producción de frutos partenocárpicos con P-Ca $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (3X, 30+45+60 ddp) aplicado al follaje, y PBZ $2500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ aplicado al suelo 30 días después de la poda.

En ambos ciclos evaluados, pero sobretodo en un año off, P-Ca se muestra como un posible sustituto de PBZ para reducir crecimiento vegetativo, incrementar y adelantar floración, y producción de fruto.

Se requieren mayores dosis de P-Ca en mango, por ser una especie tropical, para lograr el efecto deseado.

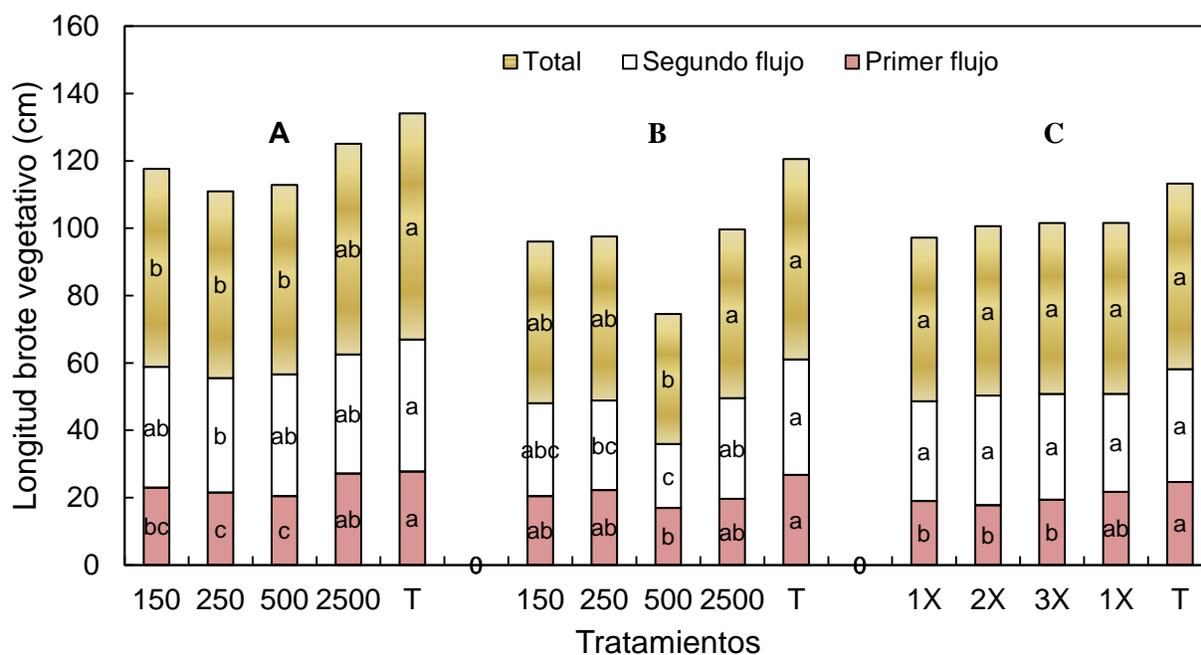


Figura 4.1. Longitud del brote vegetativo emergido después de poda (23 de julio) en árboles de mango 'Ataulfo'. A) P-Ca cuatro aplicaciones (4X) de cada dosis ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) a 0+10+20+30 ddp (E1). B) P-Ca 3X de cada dosis a 30+45+60 ddp (E2). C) P-Ca ($500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 1X a 0 ddp, 2X a 0+10 y 3X a 0+10+20 días (E3). PBZ ($2500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 1X a 30 ddp y Testigo. Medias con la misma letra dentro de columnas no son significativamente diferentes. Tukey $P \leq 0.05$. Ciclo 2012-2013

Cuadro 4.1. Días a plena brotación floral, adelanto y porcentaje de floración en árboles de mango 'Ataulfo' con y sin biorregulador de crecimiento. Ciclo 2012-2013.

Tratamiento	Plena brotación floral (ddp) ^z			Porcentaje (%)		
	E1 ^y	E2	E3	E1	E2	E3
P-Ca 150	213 a ^x	183 a	176 a	68 ab	80 a	79 a
P-Ca 250	220 a	185 a	174 a	74 ab	80 a	86 a
P-Ca 500	192 b	180 a	175 a	66 b	83 a	93 a
PBZ 2500	186 b	182 a	170 a	80 a	87 a	91 a
Testigo	213 a	189 a	176 a	39 c	81 a	83 a
CV	8.8	5.7	12.1	12.7	17.4	10.4

^z Plena brotación floral, $\geq 80\%$. Días después de la poda (ddp)

^y P-Ca ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 4X a 0+10+20+30 ddp en E1; 3X a 30+45+60 ddp en E2 y P-Ca 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 1 (0 ddp), 2 (0+10) y 3X (0+10+20) en E3; PBZ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 1X a 30 ddp.

^x Medias con la misma letra dentro de columnas no son significativamente diferentes. Tukey $P \leq 0.05$

Cuadro 4.2. Número inicial de frutos Polinizados (POL) y partenocárpico (PRT) y amarre final de POL en árboles de mango 'Ataulfo' con P-Ca. Ciclo 2012-2013.

Tratamiento	Frutos·inflorescencia ⁻¹ (Núm.)		
	Inicial ^z		Final ^z
	POL	PRT	POL
P-Ca 500 (1X) ^y	2.6 ab ^x	6.0 a	2.1 ab
P-Ca 500 (2X)	2.2 b	6.0 a	1.7 b
P-Ca 500 (3X)	2.8 a	4.4 ab	2.5 a
PBZ 2500 (1X)	2.6 ab	3.6 ab	2.5 a
Testigo 2	1.6 c	5.7 b	1.6 b
CV	14.69	25.5	15.6

^z Inicial, 45 DDF; Final, dos semanas antes de cosecha.

^y Una aplicación (1X); Dos aplicaciones (2X); Tres aplicación (3X).

^x Medias con la misma letra dentro de columnas no son significativamente diferentes. Tukey P ≤ 0.05.

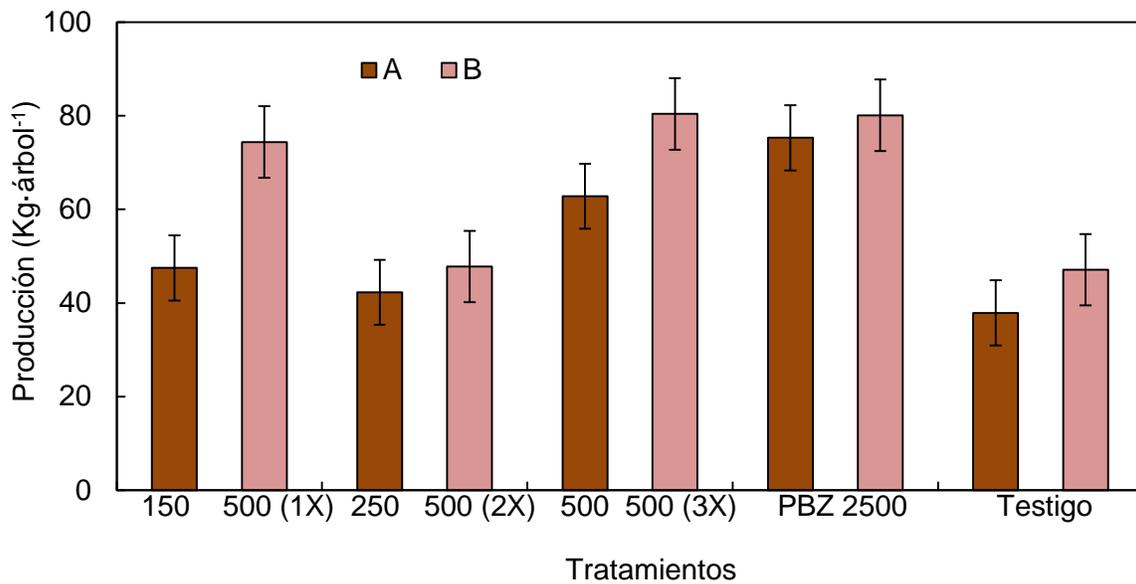


Figura 4.2. Producción de fruta en árboles de mango 'Ataulfo'. A) P-Ca 4X de cada dosis ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) a 0+10+20+30 ddp (E1). B) P-Ca ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$); 1X a 0, 2X a 0+10 y 3X, a 0+10+20 ddp (E3). Las barras en cada punto representan el promedio de 6 árboles por tratamiento \pm error estándar. Ciclo 2012-2013.

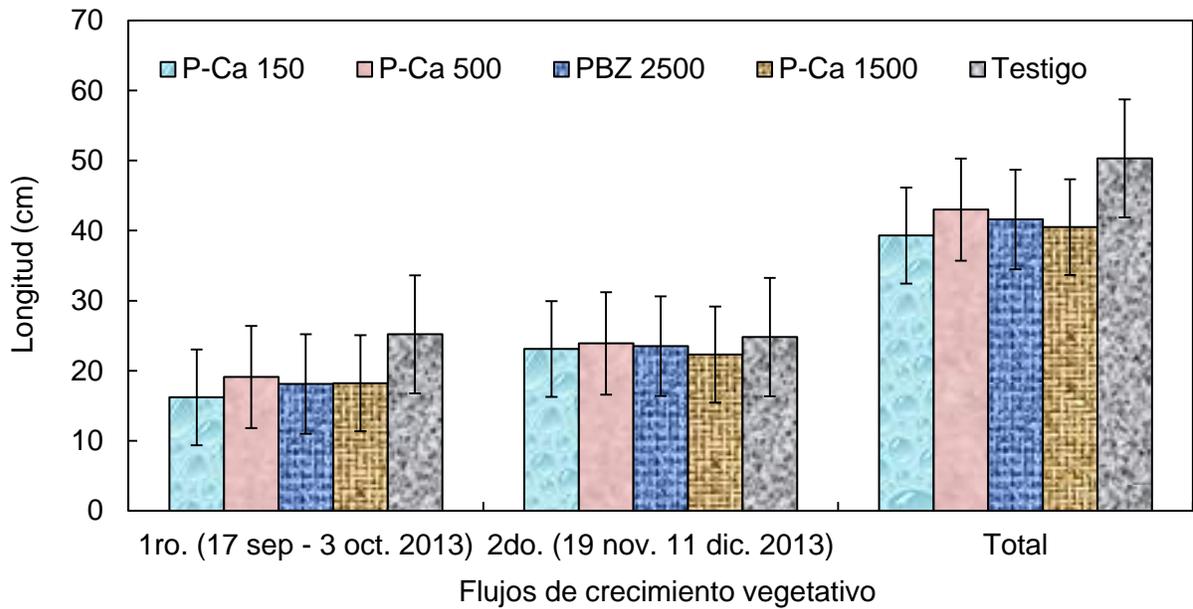


Figura 4.3. Longitud del brote vegetativo emergido después de la poda (24 julio) en árboles de mango 'Ataulfo'. P-Ca 150 y 500 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 3X a 30+45+60 ddp y 1500 1X a 30 ddp. Las fechas corresponden al inicio y término de cada flujo. Las barras en cada punto representan el promedio de 24 brotes por tratamiento \pm error estándar. Ciclo 2013-2014.

Cuadro 4.3. Días a brotación floración, adelanto e intensidad de floración en árboles de mango 'Ataulfo' con P-Ca. Ciclo 2013-2014

Tratamiento	Plena floración (ddp) ^z	Adelanto ^y (Días)	Porcentaje (%)
P-Ca 150 (3X) ^x	161 a ^w	9	55.0 b
P-Ca 500 (3X)	150 ab	20	68.3 ab
PBZ 2500 (1X)	145 b	25	86.7 ab
P-Ca 1500 (1X)	135 b	35	92.2 a
Testigo	170 a		55.8 b
CV	8.7		26.2

^z Plena brotación floración, ≥80%. Días después de la poda, ddp.

^y Número de días respecto al testigo.

^x Tres aplicaciones = 3X; una aplicación = 1X.

^w Medias con la misma letra dentro de columnas no son significativamente diferentes. Tukey P ≤ 0.05.

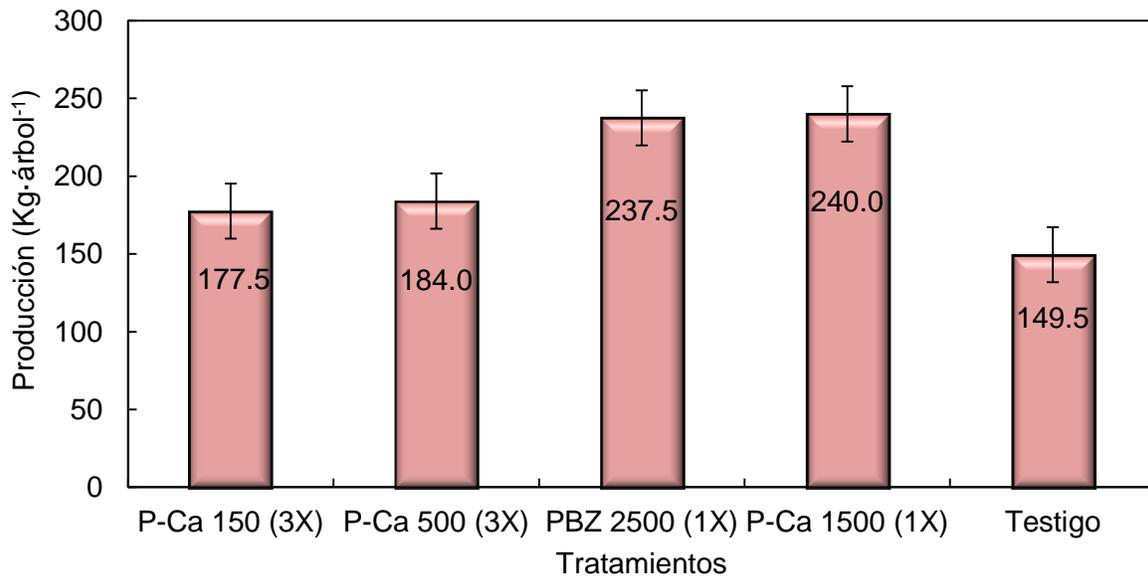


Figura 4.4. Producción de fruta en árboles de mango 'Ataulfo' con y sin biorregulador. Las barras en cada punto representan el promedio de 6 árboles por tratamiento \pm error estándar. Ciclo 2013-2014

CAPÍTULO V. BIORREGULADORES DE CRECIMIENTO EN AMARRE, CRECIMIENTO DE FRUTO Y TAMAÑO DE LA DEMANDA

Introducción

En mango 'Ataulfo', la producción de frutos sin semilla se presenta cada vez con mayor frecuencia en las zonas productoras, disminuyendo rendimiento y productividad de los huertos. Aunque la ausencia de semillas puede ser un atractivo en frutos que poseen muchas semillas como cítricos, tuna, papaya; o en aquellos que poseen una semilla grande como mango (Baker *et al.*, 1973; Varoquaux *et al.* 2000), el desarrollo de la misma promueve expansión celular vía síntesis de hormonas u otros compuestos no totalmente determinados, otorgando un mayor tamaño (Gillaspy *et al.*, 1993).

El fruto de mango es una drupa con el pericarpio dividido en exocarpio, mesocarpio y endocarpio que envuelve a la semilla. El crecimiento sigue una curva sigmoide (Mukherjee, 1992; Tharanathan *et al.*, 2006): Etapa I, 0-14 días después de floración (DDF); caracterizada por un crecimiento lento (Ram, 1992) pero activa división celular en el pericarpio, después de polinización y fecundación; ETAPA II, 14-42 DDF es un crecimiento rápido, hay expansión celular, se inicia el desarrollo de la semilla (Ram, 1992). En la Etapa III de 42 a 77 días, el fruto crece por un aumento acelerado en el tamaño de las células (expansión celular) hasta alcanzar su tamaño final. En esta etapa el embrión alcanza la fase de torpedo e inicia su maduración hasta alcanzar su madurez justo cuando el fruto llega a su máximo crecimiento (madurez fisiológica) (Varoquaux *et al.*, 2000). En mango la mayoría de los frutillos caen durante la primera semana después de floración y se atribuye a fallas en los procesos de polinización-fecundación. El segundo flujo de caída es debido a deficiencia de citocininas y niveles altos de inhibidores y aparentemente coincide con fallas en el desarrollo del embrión, (28-35 DDF); el tercer flujo, después de los 42 DDF, se atribuye a nutrición y fotosíntesis (Ram, 1992; Singh *et al.*, 2005) y aunque el número de frutos es menor, el costo es alto.

Existen reportes contradictorios respecto al contenido de hormonas en mango. En pericarpio hay bajo contenido de auxinas en los primeros 14 DDF (E I), el contenido aumenta de 28 a 42 días (E II), después disminuye y permanece a niveles bajos

durante E III (Ram, 1992). Contrario a Ram (1992), en pericarpio de frutos polinizados de mango 'Tainong-1' y 'Jinhuang'; Jun-hu *et al.* (2013) mencionan alto contenido de auxinas 10 días después de amarre (DDA), aparentemente al inicio de Etapa II, bajo contenido entre 20 y 30 días y un ligero incremento entre 40 y 60 días. En el embrión el contenido es alto 30 DDA y disminuye conforme el crecimiento del mismo; aunque durante todo el crecimiento el contenido es más alto que en pericarpio. Alto contenido de giberelinas (GAs) se reporta durante el crecimiento de la semilla (20 a 42 días, E II), posteriormente disminuye y se mantiene bajo durante la maduración del fruto (E III), no se reporta contenido en el pericarpio (Ram, 1992). Contrario a esto, Jun-hu *et al.* (2013) reportan alto contenido de GAs en el pericarpio entre 10 y 20 DDA, probablemente Etapa II; y un ligero incremento en Etapa III. En embrión alto contenido de 30 a 40 DDA y disminuye a 50 y 60 días, aunque existe un mayor contenido respecto a pericarpio durante el crecimiento del mismo. El contenido de GAs reportado por Ram (1992) en semilla pudiera ser el disparador para el inicio del crecimiento del fruto; aunque lo mencionado por Jun-hu *et al.* (2013) pudiera indicar que el contenido de GAs en pericarpio, también están involucradas en el crecimiento del fruto a través de elongación de células del pericarpio.

Las citocininas, están presente en semilla y pericarpio en alto contenido a 14 y 21 DDF, respectivamente (Ram 1992) y disminuye a los 35 días (Etapa II), el contenido aumenta en ambos órganos (semilla y pericarpio) a 42 y 72 días y disminuye manteniendo niveles bajos después de 82 días (Etapa III). Jun-hu *et al.* (2013) encontraron alto contenido de citocininas en pericarpio 10 DDA y bajo entre 20 y 30 días, coincidiendo en esta etapa con Ram (1992), a excepción del bajo contenido encontrado a 60 días porque Ram (1992) reporta un alto contenido en la misma etapa. En embrión el contenido es más alto que en pulpa desde 30 hasta 60 días. De acuerdo con ambos autores las citocininas están presentes en Etapa I, lo que indica el papel importante de esta hormona en división celular, mejorando amarre de fruto. Mientras que el alto contenido en Etapa III (Ram, 1992) pudiera estar relacionado con la presencia de giberelinas en la misma etapa, indicando que ambas participan en el crecimiento de fruto.

Por otro lado, la cantidad de inhibidores como ácido abscísico (ABA) se encuentran en alta concentración en pericarpio de 7 a 21 DDF (final de Etapa I e inicio de Etapa II), posteriormente baja y mantiene niveles bajos durante maduración de fruto, Etapa III (Ram, 1992). En este aspecto, Jun-hu *et al.* (2013) encontraron alto contenido 10 DDA, disminuyendo entre 20 y 30 con ligero incremento a los 60 días. En el embrión, entre 30 y 40 días el contenido es alto y disminuye posteriormente con el desarrollo del mismo, aunque es mayor que en pulpa. El alto contenido al final de Etapa I y Etapa II, pudiera estar relacionado con caída de fruto, provocando abscisión.

En frutos partenocárpicos de tomate, hay evidencias de que las auxinas y GAs son requeridas para el desarrollo del fruto (Bunger-Kibler and Bangerth, 1982; Serrani *et al.*, 2007); aunque existen reportes que auxinas actúan antes o independientemente de GAs y que pueden reemplazar las señales de polinización y fecundación (Serrani *et al.*, 2008). Por otra parte, en especies como *Arabidopsis thaliana* las auxinas pueden actuar como señales antes de la fecundación, dando lugar a una fecundación exitosa y estimulando biosíntesis de GAs en semilla que dispara el desarrollo de fruto, lo que sugiere interrelación entre estas hormonas (Ozga and Reinecke, 2003; Dorcey *et al.*, 2009). También se menciona que GAs producidas por el polen, incrementan la producción de auxinas en el ovario, sirviendo como una señal para el amarre del fruto y promover la división celular (Gillaspy *et al.*, 1993).

Algunos estudios muestran que las citocininas regulan división celular por lo que es posible su asociación con el crecimiento del fruto aumentando el número de células. En tomate se ha encontrado una correlación entre el contenido de estas y la división celular (Srivastava y Handa, 2005; Matsuo *et al.*, 2012). También se ha encontrado una alta concentración de citocininas en semillas en desarrollo de tomate, sugiriendo que tienen un papel importante en el desarrollo embrión/semilla y crecimiento del fruto (Pandolfini, 2009).

En frutos partenocárpicos de mango, Jun-hu *et al.* (2013) muestran que de 10 – 30 DDA tienen menor contenido de GAs y auxinas y mayor contenido de ABA que aquellos con semilla. Lo anterior indica probablemente que el menor contenido de hormonas en pericarpio aunado a la falta de semilla en frutos partenocárpicos, le

confiere un menor tamaño ya que las semillas son fuente importante de síntesis de GAs y citocininas.

Varios trabajos con GAs han mostrado un efecto positivo en el amarre de fruto de mango. En mango 'Kensington Pride', AG₁₃ asperjado antes de plena floración fue efectivo para amarre inicial pero AG₄ (10 ppm) fue mejor en el amarre final de acuerdo con Singh (2009), el autor concluye que la aplicación de GAs es importante para asegurar amarre de fruto en lugares con temperatura bajas durante floración. Por su parte, Chutichudet *et al.* (2006) encontraron un incremento en amarre de fruto en mango 'Srisaket 007' con la aplicación de 50 ppm de AG₃ en Etapa I. Resultados similares con la aplicación de giberelinas se obtuvieron en mango 'Irwin', mejorando el amarre de frutos partenocárpicos (Ogata *et al.*, 2010).

La aplicación de bioreguladores en la Etapa 1, ha resultado efectiva para incrementar el tamaño del mismo al estimular la división y elongación celular en especies como cerezo (Stern *et al.*, 2007), vid (Vasconcelos-Botelho *et al.*, 2003), pera (Stern y Flaishman, 2003) y arándano (NeSmith, 2002). En mango, el crecimiento de fruto se logró al aplicar AG₃ en el cultivar Srisaket 00' (Chutichudet *et al.*, 2006) y en frutos partenocárpicos de 'Irwin' (Ogata *et al.*, 2010), así también al combinar el AG₃ con otros reguladores como CPPU (Sasaki y Utsunomiya, 2002). En el caso del cultivar Ataulfo hay pocos estudios al respecto (Pérez-Barraza *et al.*, 2009).

Respecto a carbohidratos, hay evidencias que GAs y otros reguladores de crecimiento, incrementan el tamaño de fruto, al modificar el patrón de distribución de fotosintatos en fruto, específicamente un aumento en la concentración de azúcares en diferentes frutales como vid (Pérez y Gómez, 2000), pera 'Kousui' (Zhang *et al.*, 2007) y cítricos (Agusti *et al.*, 2002; Khalid *et al.*, 2012). No obstante, en arándano cv. Beckyblue rabbiteye, la aplicación de GAs no modificó el patrón de distribución, lo que indicó que el tamaño de frutos tanto polinizados como tratados con AG₃ no dependió de la capacidad para acumular azúcares. (Cano-Medrano y Darnell, 1997).

La fuerza de la demanda influye en los niveles de azúcares como glucosa, fructosa y sacarosa. En frutales, dependiendo de la especie, tejido y etapa de desarrollo de fruto, tres enzimas varían en su actividad en relación a la fuerza del sink (demanda) y acumulación de azúcares (Hubbard, 1999). Sacarosa sintasa (SS) (E. C.

2.4.1.13) funciona en direcciones de síntesis e hidrólisis de sacarosa, esta última en las primeras etapas de desarrollo de frutos. En dirección de hidrólisis, forma fructosa y ADP-glucosa. Invertasa ácida, (E.C.3.2.1.26) cataliza la hidrólisis de sacarosa a fructosa y glucosa. Sacarosa fosfato sintasa (SPS) (E.C.2.4.1.14) está envuelta en la síntesis de sacarosa (McCollum *et al.*, 1988; Zhou y Paull, 2001).

En mango hay pocos trabajos sobre el contenido de carbohidratos en frutos en desarrollo. En el cultivar Irwin durante el desarrollo de fruto (90-110 días después de floración; la última fecha correspondió a madurez fisiológica) el contenido de fructosa se incrementó ligeramente de $12.8 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso fresco a 20.60 mg ; después de cosecha se incrementó a aproximadamente 30 mg y permaneció estable hasta madurez de consumo. El contenido de glucosa se mantuvo estable entre $10 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ y disminuyó después de cosecha. El contenido de sacarosa fue más bajo que glucosa y fructosa durante el desarrollo; no obstante después de cosecha hasta madurez de consumo presentó un fuerte incremento de 5.9 hasta $82 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. El contenido de almidón fue alto durante el desarrollo ($\approx 50 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) y disminuyó después de cosecha hasta prácticamente desaparecer (Wei *et al.*, 2013). En mango 'Keitt', Bernardez-Silva *et al.* (2008) observaron acumulación de almidón durante el desarrollo del fruto y mencionan que es la fuente más probable de carbón para la síntesis de azúcares solubles. Aparentemente, glucosa y fructosa pueden ser utilizadas tanto para sintetizar almidón (AS) como para respiración. Durante el desarrollo hay un baja cantidad de sacarosa, debido a la hidrólisis de este disacárido importado para proporcionar el carbono demandado durante el desarrollo (Bernardez-Silva *et al.* 2008).

La mayoría de los estudios en el contenido de carbohidratos han sido enfocados principalmente a postcosecha. Durante esta etapa, la degradación de almidón está altamente correlacionada con la acumulación de sacarosa, concluyendo que es el principal azúcar en mango (Castrillo *et al.*, 1992; Bernardez-Silva *et al.*, 2003; Bernardez-Silva *et al.*, 2008; Wei *et al.*, 2013). Se sugiere que tanto la enzima α -amilasa como β -amilasa están implicadas en la degradación del almidón durante la maduración de fruto (Bernardez-Silva *et al.* 2008; Peroni *et al.*, 2008). Mientras que la síntesis de sacarosa es debido a la actividad de SPS, aunque SS pudiera contribuir en

dirección de síntesis no contribuye significativamente en el metabolismo de sacarosa durante esta etapa (Hubbard *et al.*, 1991; Castrillo *et al.*, 1992; Wei *et al.* (2013).

Por otro lado, en muchos frutales la producción de células antes de floración e inmediatamente después de polinización/fecundación es el primer factor que dispara o impulsa el crecimiento temprano del fruto. Mientras que la expansión o elongación celular es un importante facilitador del crecimiento de órganos, un mayor crecimiento del fruto especialmente durante la etapa tardía del desarrollo es a menudo alcanzado (Johnson *et al.*, 2011).

Variaciones en tamaño de frutos está asociado con diferencias en el número y tamaño de células, frutos grandes se relacionan con un alto número de células en muchos frutales como durazno (Scorza *et al.*, 1991), fresa (Cheng y Breen, 1992), olivo (Rapoport *et al.*, 2004), tomate (Bohner and Bangerth, 1988; Bertin *et al.*, 2003; Tanksley, 2004; Bertin *et al.*, 2009) y cerezo (Olmstead *et al.*, 2007). Hay evidencias que los biorreguladores de crecimiento inducen amarre y desarrollo de frutos partenocárpicos, afectando división y expansión celular. En arándano cv. Beckyblue las diferencias en el tamaño final de frutos polinizados y partenocárpicos tratados con AG₃, fueron debidas a la expansión celular más que al número de células (Cano-Medrano y Darnell, 1997). En vid 'Sultana' la aplicación de AG₃ (45 mg·L⁻¹) ocho días después de floración incrementó el tamaño de frutos sin semilla al incrementar división y elongación celular (Pérez y Gómez, 2000). Mientras que en pera 'Kousui' un incremento en tamaño de fruto fue en respuesta a la aplicación exógena de AG₃₊₄ y estuvo asociado con un incremento en el tamaño de células del mesocarpio (Zhang *et al.*, 2006).

De acuerdo con los estudios anteriores, se tienen evidencias que los biorreguladores de crecimiento modifican la distribución de fotosintatos, incrementando tamaño de frutos al acumular más azúcares, aunque esto depende de la especie y/o tipo de fruto. De acuerdo a varios autores son tres las enzimas que participan en el metabolismo de sacarosa en muchas especies que almacenan almidón; no obstante, los estudios al respecto en frutos de mango en su mayoría se han enfocado en frutos en etapa de maduración y existen pocos trabajos en las primeras etapas del desarrollo de fruto. En frutos partenocárpicos de mango 'Ataulfo', no existen estudios que

relacionen la distribución de fotosintatos con tamaño de fruto y mucho menos en su relación con el uso de biorreguladores.

Además, los trabajos realizados por varios autores, muestran que el tamaño del fruto está relacionado con número y/o tamaño de células en especies frutales y que esto a su vez es afectado por biorreguladores de crecimiento. Pero en frutos de mango, no existen a la fecha trabajos al respecto y menos aún en frutos partenocárpicos de 'Ataulfo'.

Por lo anterior, el objetivo fue determinar la etapa fisiológica y el número de aplicaciones de AG₃ y TDZ para promover amarre y desarrollo de frutos tanto polinizados como partenocárpicos, así como determinar si el tamaño de frutos partenocárpicos tratados con biorreguladores de crecimiento, se relaciona con la acumulación de azúcares y/o con número y tamaño de células.

Materiales y Métodos

Experimentos 1. AG₃ en diferentes etapas de desarrollo y 2. AG₃ + TDZ en aplicaciones repetidas.

El estudio se realizó en 2012 en Atonalisco, municipio de Tepic, Nayarit (21° 18' N y 104° 53' W, 450 msnm). Se seleccionaron dos huertos comerciales de mango 'Ataulfo'/criollo regional, con 80% de incidencia de frutos partenocárpicos (PRT) y no alternantes (año on). Los huertos se manejaron con riego por gravedad (uno cada mes a partir de febrero hasta abril), poda (despunte de aproximadamente 50 cm y eliminación de ramas centrales) y fertilización con 2 kg de triple 17 por árbol al inicio de la temporada de lluvias (junio) y 4 kg de fertilizante orgánico (gallinaza) por árbol aplicado en septiembre.

Experimento 1 (E1). Se evaluó el efecto de 50 mg·L⁻¹ de AG₃ en el crecimiento de fruto en aplicaciones simples a 0, 15, 30, 45 o 60 días después de floración (DDF, 80% de floración) y en combinación con TDZ (50 mg·L⁻¹ de c/u) a 15+30+45+ 60 DDF más un testigo. Los árboles fueron de 10 años de edad establecidos a 8x8 m entre hilera y árbol, respectivamente.

Experimento 2 (E2). Se evaluó el efecto de 50 mg·L⁻¹ tanto de TDZ como de AG₃ en amarre y crecimiento de fruto. En todos los tratamientos se aplicó TDZ a 0 DDF combinado con una, dos, tres, o cuatro aplicaciones de AG₃ a 15, 15+30; 15+30+45 y 15+30+45+60 DDF más un testigo. Los árboles fueron de 10 años, establecidos a 8x8 m entre hilera y árbol, respectivamente.

En ambos experimentos las aspersiones se efectuaron a punto de goteo entre 8:00 y 10:00 am mediante bomba aspersora motorizada. Como fuente de TDZ se utilizó el producto comercial Revent[®] y para el AG₃ se utilizó Progibb[®]. Se usó 1 ml·L⁻¹ de agua de surfactante (Inex[®]) y urea foliar al 1% como penetrante. El testigo se asperjó con agua + surfactante y urea, el pH de las soluciones se ajustó a 5.8 con ácido clorhídrico (HCl).

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar en los tres experimentos. En E1 se evaluaron siete tratamientos con seis repeticiones y un árbol

como parcela útil. En E2 se evaluaron cinco tratamientos con ocho repeticiones y un árbol como parcela útil. En E3 se evaluaron tres tratamientos con ocho repeticiones y un árbol como parcela útil.

Se llevaron a cabo análisis de varianza y comparaciones múltiples de medias de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0,05$. Se utilizó el programa SAS versión 9,2 (SAS, 2008).

Las variables evaluadas en E1 y E2 fueron las siguientes:

Crecimiento acumulado. El crecimiento acumulado de fruto se realizó mediante mediciones semanales de longitud a partir de 30 DDF, utilizando un vernier digital (Control Company). Para ello, se seleccionaron cuatro inflorescencias por árbol y se marcaron dos frutos por cada inflorescencia (uno de cada tipo, PRT y POL). Con la variable longitud se estimó la tasa de crecimiento relativo (TCR) utilizando la siguiente fórmula: $TCR = (\ln L2 - \ln L1)/(t2-t1)$; donde L = longitud y t = tiempo o periodo de medición.

Amarre inicial de fruto. Para evaluar el amarre inicial de frutos se seleccionaron cuatro inflorescencias-árbol⁻¹ (adicionales a las anteriores) y se contabilizó el número de frutos-inflorescencia⁻¹ a los 45 DDF, tiempo en el cual el fruto tiene un tamaño entre 1 y 2 cm de diámetro (tamaño canica) y ha pasado la primera caída, se contabilizó también el número frutos-inflorescencia⁻¹ hasta madurez fisiológica (dos semanas antes de cosecha). Se utilizó el número inicial y final de frutos-inflorescencia⁻¹ para calcular el porcentaje final de amarre.

Rendimiento. El rendimiento se evaluó al momento de la cosecha, se registró la producción de fruta (kg-árbol⁻¹) y se utilizó una báscula digital marca Ohaus.

Calidad de fruto. Las variables de calidad, peso fresco (PF), color en pulpa y epidermis, firmeza, sólidos solubles y acidez titulable se evaluaron en una muestra aleatoria de 10 frutos por cada tratamiento al momento de la cosecha. PF se evaluó con una báscula electrónica portátil de la marca Ohaus (Scott II). El color de epidermis y pulpa se determinó en la parte ecuatorial del frutos con un colorímetro portátil (Color Reader CR 10®; Konica Minolta Sensing Inc., Japan), y se reportó como ángulo de matiz; en el

caso de color de pulpa se utilizó también la carta de color propuesta por los Empacadores de Mango para Exportación (EMEX). La firmeza de la pulpa se midió con un penetrómetro (Chatillón DFE-050®; Ametek Instruments, Largo, FL, USA) adaptado con punzón cilíndrico de 6 mm de diámetro; la lectura se hizo en la parte ecuatorial del fruto después de eliminar 0.5 cm de la cáscara, y los datos se expresaron en Newtons (N). Los sólidos solubles totales (SST) se determinaron directamente en tres a cuatro gotas de jugo por fruto, con un refractómetro digital (Atago PAL-1®; Atago Inc. Bellevue, WA, USA) con corrección de temperatura; las mediciones se expresaron en °Brix (AOAC, 1984). La acidez titulable se evaluó en 3 a 5 g de muestra previamente homogeneizada según el método AOAC (1984) y relación brix/acidez se obtuvo de la división de sólidos solubles totales entre acidez titulable (% de ácido cítrico), donde el valor mínimo deseado debe ser ≥ 35 .

Experimento 3. Efecto de TDZ y AG_3 en tamaño de fruto, contenido de carbohidratos, número y tamaño de células.

El estudio se realizó en 2014 en Atonalisco, municipio de Tepic, Nayarit ($21^{\circ} 18'$ N y $104^{\circ} 53'$ W, 450 msnm). Se seleccionó un huerto comercial de mango 'Ataulfo'/criollo regional, con 80% de incidencia de frutos partenocárpicos (PRT). Los árboles fueron de 8 años establecidos a 5 x 5 m entre hilera y árbol, respectivamente. El huerto se manejó con riego por gravedad (uno cada mes a partir de febrero hasta abril), poda (despunte de aproximadamente 50 cm y eliminación de ramas centrales) y fertilización con 2 kg de triple 17 por árbol al inicio de la temporada de lluvias (junio) y 2 kg de fertilizante orgánico (gallinaza) por árbol aplicado en septiembre.

Se evaluaron tres tratamientos. En el tratamiento 1, se aplicó $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de TDZ a 0 DDF combinado con tres aplicaciones de AG_3 a 15+30+45 DDF. El tratamiento 2 correspondió a la aplicación de TDZ+ AG_3 ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de c/u) a 15+30+45+ 60 DDF. Se utilizó un testigo. Los trabajos anteriores indicaron que estas dosis incrementaron el tamaño de fruto.

Las aspersiones se efectuaron a punto de goteo entre 8:00 - 10:00 am mediante bomba aspersora motorizada. Como fuente de TDZ se utilizó el producto comercial

Revent[®] y para el AG₃ se utilizó Progibb[®]. Se usó 1 ml·L⁻¹ de agua de surfactante (Inex[®]) y urea foliar al 1 % como penetrante. El testigo se asperjó con agua + surfactante y urea, el pH de las soluciones se ajustó a 5.8 con ácido clorhídrico (HCl).

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar se evaluaron tres tratamientos con cuatro repeticiones y un árbol como parcela útil.

Se llevaron a cabo análisis de varianza por fecha de muestreo y comparaciones múltiples de medias de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0,05$. Se utilizó el programa SAS versión 9,2 (SAS, 2008).

Las variables evaluadas fueron: contenido de carbohidratos y número y tamaño de célula.

Determinación de carbohidratos. En cada tratamiento, se realizaron muestreos de frutos a 15, 30, 45, 60 y 105 días después de plena floración (DDF), el último muestreo se realizó al momento de la cosecha (madurez fisiológica). En el primer muestreo se tomaron en campo 10 frutillos de cada repetición (aproximadamente 5 g), en los muestreos posteriores se tomaron hasta dos frutos partenocárpicos y dos polinizados por repetición y en el muestreo final, un fruto de cada uno por repetición. Estos fueron transportados en hielo al laboratorio. De cada fruto se tomó una muestra aleatoria de aproximadamente 5 g de pulpa, de la parte media del fruto. Las muestras fueron almacenadas a -20°C hasta su análisis. De cada tipo de fruto y repetición se tomó 1.0 g de peso fresco (ps) de pulpa, por separado y fue molido con nitrógeno líquido. Para la extracción se utilizó etanol al 80% (10 ml) a ebullición por 2 min. Se agregó 100 mg de manitol como un estándar interno. El extracto se centrifugó a 3000 rpm y el sobrenadante fue decantado y el residuo fue extraído dos veces más. Al sobrenadante se le agregó cloroformo (3 ml), se centrifugó a 2000 rpm durante 3 min a 4°C. Se rescató la fase acuosa y fue secada al vacío, resuspendida con agua y pasada a través de resinas de intercambio iónico (Dowex-1 y Dowex-50). El sobrenadante final fue secado al vacío, resuspendido con agua grado HPLC y filtrado a través de un filtro con malla de 0.45 µm.

El contenido de glucosa, sacarosa y fructosa se determinó mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). La muestra fue inyectada dentro de

un Bio-Rad HPLC (Cambridge, MA), se utilizó una columna de intercambio catiónico Bio-Rad Aminex® HPX-87 °C con las siguientes condiciones de medición: flujo de 0.6 ml min⁻¹, temperatura en la columna de 80°C, temperatura de la celda de detección 45°C, y fase móvil, agua grado HPLC. Se inyectó un volumen de 20 µl.

Tamaño y número de células. En los mismos tratamientos, se realizaron muestreos de frutos a 15, 30 y 45, días después de plena floración (DDF). En cada etapa de muestreo se tomaron 3 frutos por repetición para un total de 12 frutos por tratamiento. Sólo en la etapa de 45 DDF se muestrearon 12 frutos partenocárpicos y 12 polinizados por tratamiento. En cada muestreo se midió longitud y diámetro de los frutos. En el primer muestreo los frutos fueron colocados inmediatamente en FAA (formaldehído, 5% (v/v); ácido acético glacial 5% y etanol 100%), en los siguientes muestreos se tomó una porción de epicarpio y mesocarpio de la parte media del fruto y se fijaron en FAA de la misma manera que en el primer muestreo. Las muestras fueron deshidratadas en series graduales de etanol y xilol para terminar con xilol 100%. Posteriormente se fijaron en parafina a 60°C. Se realizaron cortes anatómicos (8 µm) usando un micrótopo rotatorio las secciones fueron teñidas con safranina y verde fijo.

El número y tamaño de células se determinó usando microscopia (Stereomaster digital zoom high-resolution microscope; Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) y proyección de imagen tomada de la sección transversal del fruto (40X). Para el número de células, se delimitó un área de 15 mm² en cada una de las secciones utilizadas, mediante el software ImageTool ver 3.0 y se contó el número de células proyectando la imagen y realizando el conteo utilizando el mismo software. Se calculó el área de la sección transversal del fruto midiendo el diámetro del mismo y utilizando la ecuación para el área de una elipse. Para calcular el número de células del área transversal del fruto se utilizó la fórmula usada por Cano-Medrano y Darnell (1997).

Para determinar el tamaño de célula, se consideró el área delimitada (15 mm²) y se midieron 20 células por sección de la parte exterior del mesocarpio (cerca a exocarpio) utilizando el software ImageTool 3.0. El área de la sección transversal fue determinada midiendo el diámetro de la célula en dos direcciones y usando la ecuación para el área de una elipse.

Resultados

Experimento 1. AG₃ en diferentes etapas de desarrollo

Se encontraron diferencias en el número de frutos·inflorescencia⁻¹ (Pr = 0.0016), crecimiento acumulado de frutos PRT (Pr = <0.0001), rendimiento (Pr = 0.0018) y PF (Pr = <0.0001) de frutos PRT.

A los 45 DDF el amarre fue mayor con una aplicación de AG₃ a 30 (T3) o a 45 (T4) DDF y en combinación con TDZ en aplicaciones repetidas a 15, 30, 45 y 60 DDF (T6) (≈6, 5 y 6 frutos, respectivamente); no obstante, antes de la cosecha solo T3 y T6 tuvieron mayor amarre; indicado esto por un mayor número de frutos·inflorescencia⁻¹ (≈2 frutos). El testigo tuvo 0.9 frutos (Cuadro 5.1).

El crecimiento acumulado del fruto PRT mostró una curva de crecimiento sigmoide, lo que coincide con lo mencionado por otros autores (Mukherjee, 1972; Ram, 1992; Tharanathan *et al.*, 2006). En la Etapa II (30 – 45 DDF) no se observaron diferencias entre tratamientos, a partir de los 60 días se observó un ligero incremento en el tamaño de los frutos tratados con biorreguladores aunque no fueron estadísticamente diferentes al testigo. En la Etapa III (45 – 90 DDPF), los frutos con AG₃ en aplicación simple a 60 DDF (T5) y T6 tuvieron mayor tamaño con 6 y ≈7 cm de longitud, respectivamente, mientras que en el testigo (T7) los frutos midieron 4.6 cm (Figura 5.1).

La tasa de crecimiento relativo mostró una mayor velocidad de crecimiento en los frutos PRT entre 40 y 50 DDF en todos los tratamientos, aunque los tratados con TDZ + AG₃ mostraron una mayor velocidad que el resto. Los frutos tratados con biorreguladores tuvieron dos fases de rápido crecimiento, mientras que los frutos testigo solo una ≈60 DDF. En la mayoría de los frutos la velocidad de crecimiento disminuyó a ≈70 días (Figura 5.1).

Al igual que el fruto PRT, el polinizado (POL) mostró una curva sigmoide, pero no hubo diferencias entre tratamientos en el tamaño (Figura 5.2).

Respecto al rendimiento se observó un aumento en los kg de fruta por árbol en los tratamientos T5, (40 kg), T1 (47.5 kg) y T6 (57.5 kg) respecto al testigo que produjo

27.5 kg (Figura 5.3). En la misma Figura se observa que los frutos de mayor tamaño (PF) se obtuvieron en T5 y T6 (≈ 74 y 80 g, respectivamente). Esto se reflejó en un incremento entre 10 y 15 %, respectivamente, en relación al testigo. Sin embargo, no se encontró una correlación entre rendimiento y tamaño del fruto (Longitud, $r = 0.12767$; PF, $r = 0.15517$).

Experimento 2. AG₃ +TDZ en aplicaciones repetidas

Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en las variables frutos-inflorescencia⁻¹ (Pr = 0.014), crecimiento acumulado de frutos PRT (Pr = 0.001), rendimiento (Pr = 0.007), tipo de fruto (Pr = 0.001) y PF de frutos PRT (Pr = 0.001).

Todos los tratamientos con biorreguladores tuvieron mayor número de fruto-inflorescencia⁻¹ a 45 DDF, pero sólo TDZ a 0 DDF combinado con AG₃ a 15+30 DDF (T2) y TDZ a 0 DDF combinado con AG₃ a 15+30+45+60 DDF (T4) superaron significativamente al testigo (14.5; 16.1 y 5.9 frutos-inflorescencia⁻¹, respectivamente). En Etapa III (dos semanas antes de cosecha) sólo T4 tuvo mayor número de frutos (2.5) que el testigo (T7) con 1.1 fruto. Aparentemente el testigo tuvo un mayor porcentaje de frutos amarrados antes de cosecha (amarre final), respecto al amarre inicial; no obstante, esto está muy relacionado con el número inicial de frutos, el cual fue menor que en las inflorescencias tratadas (Cuadro 5.2).

Al igual que en E1 se encontró una correlación positiva entre las variables número de frutos-inflorescencias⁻¹ y rendimiento ($r = 0.95321$), pero no entre rendimiento con longitud ($r = 0.09401$) y/o peso fresco de fruto ($r = 0.08456$).

Al igual que en E1, el crecimiento acumulado del fruto PRT presentó una curva sigmoide. En frutos PRT, en la etapa inicial el crecimiento fue similar entre tratamientos pero a partir de los ≈ 50 días el crecimiento del fruto en los tratamientos TDZ a 0 DDF combinado con AG₃ a 15+30+45 DDF (T3) y T4 incrementó ligeramente respecto del resto de los tratamientos. A 105 DDF (dos semana antes de cosecha) los frutos T4 y T3 tuvieron una longitud de 8.3 y 8.0 cm, respectivamente siendo los frutos testigo de menor tamaño con una longitud de ≈ 6 cm (Figura 5.4). La tasa de crecimiento relativo mostró en T3 y T4, una mayor velocidad entre los 40 y 50 DDF.

No se encontraron diferencias en el crecimiento de frutos POL por efecto de tratamientos (Figura 5.5).

Todos los tratamientos con biorreguladores tuvieron un mayor rendimiento en relación al testigo. Los árboles de T1 y T4 produjeron ≈ 49 y $58 \text{ kg}\cdot\text{árbol}^{-1}$, mientras que en los testigos el rendimiento fue de $\approx 41 \text{ kg}$ (Cuadro 3). El PF de los frutos PRT varió de aproximadamente 105 hasta 126 g en promedio en los tratamientos con RC, los frutos testigos tuvieron un PF de 66 g. En los frutos POL no hubo diferencias entre tratamientos en el PF, éste varió de 260 a 316 g (Cuadro 5.3)

Respecto al tipo de fruto producido, el porcentaje de frutos POL varió de 62.5 a 48.8% en los tratamientos con biorreguladores, mientras que en el testigo fue de 32.5%. Por el contrario, el porcentaje de frutos PRT fue de 67.5% en el testigo y de 51.3 a 37.5% en los árboles tratados con regulador (Figura 5.6).

Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en la calidad del fruto en ninguno de los experimentos (datos no presentados). En E1 la firmeza varió de 12 a 14 N en los frutos PRT y de 13 – 16 N en los POL. La relación brix:acidez fue de 13-26 en PRT y de 19 - 28 en POL. En E2 los resultados fueron similares. En ambos experimentos, los valores encontrados en los parámetros de calidad (firmeza, relación brix:acidez, color externo y de pulpa) fueron similares entre tratamientos, lo que indica que los biorreguladores no tuvieron efecto en la calidad sino que esta fue conservada ya que los valores obtenidos en ambos experimentos, cumplieron con los estándares para exportación (EMEX, 2010).

Experimento 3. Tamaño de fruto, contenido de carbohidratos, número y tamaño de células.

Tamaño de fruto. Se encontraron diferencias significativas en las variables longitud ($Pr = 0.0002$) y diámetro ($Pr = 0.0032$) desde la Etapa II (rápido crecimiento de fruto, 45 DDF) hasta madurez fisiológica (105 DDF).

El crecimiento de frutos partenocárpicos siguió una curva sigmoide (Figura 5.7). En la Etapa II de rápido crecimiento, la longitud de frutos tratados con una aplicación de TDZ a cero DDF + tres aplicaciones de AG_3 a 15+30+45 DDF (T1) fue de 5.1 cm y en

frutos tratados con cuatro aplicaciones de TDZ+AG₃ a 15+30+45+60 DDF (T2) la longitud fue de 5.3 cm, siendo estadísticamente igual al tratamiento anterior. Los frutos testigo presentaron una longitud de 4.1 cm. En la etapa final de crecimiento (Etapa III), la longitud fue de 6.8 y 7.2 cm en los tratamientos T1 y T2, respectivamente; en frutos testigo fue de 5.1 cm. El diámetro varió de 3.4 a 4.9, el testigo presentó los frutos de menor tamaño.

Acumulación de azúcares. En frutos partenocárpicos no hubo diferencias significativas entre tratamientos en el contenido de hexosas en las primeras etapas de desarrollo (15, 30 y 45 DDF), a excepción de fructosa. En esta variable se encontraron diferencias significativas entre tratamientos durante el desarrollo del fruto (Pr = <0.0001 a 15 DDF; 0.022 a 30 días, 0.020 a 45 días, 0.011 a 60 días y 0.0010 a 105 días).

En frutos con una aplicación de TDZ (50 mg·L⁻¹) a cero DDF + tres aplicaciones de AG₃ a 15+30+45 DDF (T1) el contenido de fructosa fue de 1.03 mg·g⁻¹ de peso fresco (pf) a los 15 días DDF, disminuyó a 30 y 45 días y se mantuvo ligeramente alto de 60 a 105 DDF (Figura 5.8A). En frutos con aplicación de TDZ+AG₃ (50 mg·L⁻¹ de c/u) a 15+30+45+ 60 DDF (T2), el contenido fue bajo a 15 DDF (0.5 mg·g⁻¹ de pf), aumentó ligeramente a 30 DDF a 0.73 mg·g⁻¹ de pf y se mantuvo estable a 60 y 105 DDF con un contenido similar al anterior. En frutos testigo (T3), el contenido se mantuvo en ≈0.8 mg·g⁻¹ de pf durante el desarrollo de fruto a excepción de 45 DDF que disminuyó hasta 0.6 mg·g⁻¹ de pf.

El contenido de glucosa se mantuvo bajo pero estable entre 0.2 y 0.3 mg·g⁻¹ de pf durante las primeras etapa de desarrollo y disminuyó a 60 y 105 DDF, el comportamiento fue igual entre tratamientos (Figura 5.8B). En todos los tratamientos, sacarosa mantuvo los niveles más bajos en su contenido durante 15, 30 y 45 DDF, para incrementarse a partir de 60 DDF, alcanzando un mayor contenido a 105 DDF (mostrando diferencias significativas entre tratamientos en esta etapa (Pr = 0.004 a 60 DDF y Pr = <0.0001 a 105 días). En la última etapa el contenido varió de 1.6, 1.9 y 2 mg·g⁻¹ de pf, para T1, T2 y T3, respectivamente, T2 y T3 fueron estadísticamente iguales con mayor contenido de sacarosa (Figura 5.8C)

En frutos polinizados, los resultados fueron muy similares a los encontrados en frutos partenocárpicos (Figura 2 **A**, **B**, y **C**). No hubo diferencias significativas entre tratamientos, ni entre época de muestreo. El contenido de glucosa bajo y varió de $0.3 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de pf en las primeras etapas para disminuir a 160 y 105 DDF. Fructosa presentó diferencias entre tratamientos en las etapas muestreadas, el contenido fue similar a los partenocárpicos. Sacarosa se mantuvo a niveles muy bajos a 15, 30 y 45 DDF, posteriormente se incrementó a partir de 60 DDF de $\approx 0.5 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de pf hasta 1.5, 1.6 y $2 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de pf a 105 DDF en los tratamientos T1, T2 y T3, respectivamente, mostrando diferencias significativas entre tratamientos ($Pr = <0.004$) en esta última etapa.

Número y tamaño de células. Se encontraron diferencias significativas en la variable número ($Pr = 0.0285$ a 15 DDF y 0.0229 a 45 DDF) y tamaño de células ($Pr = 0.0103$ a 15 DDF, 0.0002 a 30 DDF y 0.0009 a 45 DDF) en mesocarpio de frutos partenocárpicos.

Quince días después de floración, los frutos tratados con una aplicación de TDZ ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) a cero DDF + tres aplicaciones de AG_3 a 15+30+45 DDF (T1) tuvieron 772 células en un área de 15 mm^2 , el resto de los tratamientos tuvo ≈ 549 y 474 células/ mm^2 (Figura 5.9). A 30 DDF el número varió de 2878 a 3262 células/ mm^2 , el mayor número correspondió a T1 pero no fue diferente a T2 ni al testigo. A 45 DDF, el número de células varió de 3526 a 4603 mm^2 , T1 presentó el mayor número aunque fue estadísticamente igual al encontrado en T2.

Se observó una variación en el tamaño de la célula, incrementándose conforme el desarrollo del fruto. A 15 DDF, el tamaño de las células fue entre 10 mil μm^2 en frutos tratados con una aplicación de TDZ a cero DDF + tres aplicaciones de AG_3 a 15+30+45 DDF (T1), y 15 mil μm^2 en los tratados con cuatro aplicaciones de TDZ+ AG_3 a 15+30+45+60 DDF (T2) y en testigo (Figura 5.10). A 30 DDF, el mayor tamaño correspondió a T2 (25 mil μm^2); T1 y T3 tuvieron un tamaño de 15 y 18 mil μm^2 , respectivamente. El tamaño se incrementó vigorosamente a 45 DDF con 76, 84 y 106 mil μm^2 , respectivamente, T2 presentó las células más grandes seguido por T1; no obstante, este último tratamiento no fue significativamente diferente al testigo.

El tamaño de células en frutos partenocárpicos a 45 DDF varió de 76 a 107 mil μm^2 , mientras que en polinizados el tamaño fue entre 134 y 147 mil μm^2 (Figura 5.11). Frutos partenocárpicos con cuatro aplicaciones de TDZ + AG₃ a 15+30+45+60 DDF, tuvieron células de 107 mil μm^2 y los polinizados con la misma aplicación de regulador tuvieron células de 147 mil μm^2 .

Discusión

Experimento 1. AG₃ en diferentes etapas de desarrollo

Se logró un incremento en el amarre de fruto de 39-42%, en la Etapa 1 en los tratamientos T3 y T6, respectivamente y 47% en Etapa 3 (dos semanas antes de cosecha). Los resultados concuerdan con los obtenidos en mango 'Kensington Pride' por Singh (2009). De acuerdo al autor, GAs aplicadas en plena floración, incrementan amarre de fruto y cuando se aplicaron en etapa de yema hinchada AG₁₃ tuvo mejor amarre que AG₃ o AG₇, aparentemente la aplicación de GAs mejora el amarre de frutos en áreas donde se presentan temperaturas bajas durante floración. Al igual que en este estudio, el amarre en mango 'Srisaket 007' se logró con aplicación de GAs (Chutichudet *et al.*, 2006) y con la combinación de estas con CPPU en mango 'Irwin' (Sasaki y Utsunomiya, 2002).

En Etapa II ocurre división celular en el pericarpio y el número de células aumenta notablemente (Varoquaux *et al.*, 2000), esto va acompañado por la formación de la semilla y desarrollo del embrión. En este estudio, el incremento logrado en amarre de frutos puede deberse a la aplicación de giberelinas exógenas en esta etapa, así como a las citocininas tanto exógenas (tratamiento combinado) como endógenas, alto contenido en pericarpio en esta etapa (Ram, 1992), estimulando probablemente división celular.

De acuerdo con Ram (1992) en la Etapa II hay un rápido crecimiento del fruto, lo que coincide con una mayor velocidad de crecimiento relativo observado entre 40 y 50 DDF en nuestro estudio. En este experimento una sola aplicación de AG₃ a 60 DDF y cuatro aplicaciones de TDZ + AG₃ aumentaron el tamaño (longitud) de fruto PRT a partir de 60 DDF respecto al testigo, lo cual puede estar relacionado con una mayor velocidad del crecimiento relativo observado en esa época.

Al final del crecimiento (dos semanas antes de cosecha), se logró un incremento en el tamaño de 23 y 44% respectivamente alcanzando una longitud de aproximadamente 7 cm. En esta etapa de rápido crecimiento y hasta cosecha donde el proceso más activo es elongación celular (Varoquaux *et al.*, 2000) y el contenido de

citocininas y giberelinas es alto en pericarpio de acuerdo con Ram(1992) y Jun-hu *et al.* (2013), respectivamente; sugiere un relación entre estas dos hormonas y al parecer ambas son requeridas para elongación celular. En este estudio el incremento en tamaño logrado en la última etapa de crecimiento fue mayor en el tratamiento combinado (TDZ + AG₃) lo que confirma lo anterior.

Resultados similares en incremento en tamaño de fruto fueron obtenidos en mango 'Irwin' con la aplicación de AG₃ (Ogata *et al.*, 2010) y con dos y cuatro aplicaciones de CPPU + AG₃ al aplicarlo al final de Etapa I (Sasaki y Utsunomiya, 2002). El incremento en tamaño fue atribuido, de acuerdo a los autores, a un aumento en la disponibilidad de carbohidratos o incremento de la demanda por efecto de los reguladores como sucedió en frutos de kiwi tratados con TDZ+AG₃ (Famiani *et al.*, 2007), mientras que Stern *et al.* (2007) mencionan que el aumento en tamaño de frutos de cereza fue debido a que el biorregulador aplicado (50 mg·L⁻¹ de 2,4-DP; 25 días después de floración) estimuló la elongación celular del pericarpio de los frutos.

Al igual que en la longitud Ogata *et al.* (2010) y Sasaki y Utsunomiya (2002) encontraron un incremento en el PF de frutos de mango por efecto de los biorreguladores. En kiwi (Famiani *et al.*, 2007) y vid 'Niagara Rosada' (Vasconcelos-Botelho *et al.*, 2003) también se ha reportado un incremento del PF de fruto con TDZ y AG₃.

Experimento 2. AG₃ +TDZ en aplicaciones repetidas

Se obtuvo un mayor número de frutos·infiorecencia⁻¹ en el amarre inicial respecto al testigo en todos los tratamientos con biorreguladores, pero dos semanas antes de la cosecha solo T4 (TDZ a 0 DDF + AG₃ a 15+30+45+60 DDF) aumentó el número de frutos retenidos. En este experimento se confirma la acción de la citocinina para incrementar amarre al aplicarse en plena floración (Etapa I). Otros autores, reportan resultados similares en el incremento en amarre en mango y otros frutales como se comentó anteriormente en E1.

Al igual que en E1, se logró aumentar el tamaño del fruto PRT a partir de 50 DDF con una aplicación de TDZ en plena floración + tres (30, 45 y 60 DDF) o cuatro

aplicaciones (15, 30, 45 y 60 DDF) de AG₃ respecto al testigo, aunque el crecimiento fue más significativo una semana antes de cosecha logrando un incremento entre 17 y 21%, respectivamente. Resultados similares en el incremento en tamaño (longitud) del fruto por efecto de biorreguladores han sido reportados en mango (Ogata *et al.*, 2010; Sasaki y Utsunomiya, 2002) y otros frutales como cítricos, kiwi y cereza (Famiani *et al.*, 2007; Stern *et al.*, 2007) indicando que los biorreguladores incrementan la demanda de fotoasimilados y/o estimulan la elongación celular. En este experimento se confirma la acción de las dos hormonas en la Etapa III de crecimiento de fruto confiriéndole mayor tamaño probablemente por su acción en la elongación celular. Al parecer el efecto del AG₃, es potencializado por TDZ o bien puede ocurrir una acción cruzada entre estas dos hormonas; no obstante, futuros trabajos en este aspecto deben ser realizados para corroborar esta suposición.

Todos los tratamientos que contenían TDZ combinado con AG₃, independientemente del número de aplicaciones, aumentaron el rendimiento y peso fresco de los frutos PRT desde 37 a 48%, este último incremento fue logrado con TDZ + tres aplicaciones de AG₃. Resultados similares fueron encontrados por otros autores tanto en mango como en otros frutales tropicales (kiwi) y templados (vid) (Famiani *et al.*, 2007; Ogata *et al.*, 2010; Sasaki y Utsunomiya, 2002; Vasconcelos-Botelho *et al.*, 2003). En los frutos polinizados no se encontró un efecto positivo en el peso fresco, aunque este no fue superado por los partenocárpicos.

Una aplicación de TDZ+1-4 de AG₃, independientemente del número y época de aplicación, incrementaron el porcentaje de frutos polinizados, aunque el mayor incremento se logró con TDZ+1-2 aplicaciones de AG₃. Por el contrario, el testigo produjo un mayor porcentaje de frutos partenocárpicos. Es probable que TDZ aplicado en floración esté mejorando o sustituyendo polinización, fecundación o desarrollo del embrión. Resultados similares se obtuvieron en otras especies como melón 'Reina de Corazones' donde se mejoró la polinización con aplicaciones de CPPU (100-200 mg·L⁻¹) obteniendo un buen rendimiento (Huitrón *et al.*, 2007) y en especies como tomate y *Arabidopsis* las auxinas reemplazan las señales para polinización y fecundación a la vez que estimulan la síntesis de giberelinas para el desarrollo del fruto (Ozga and

Reinecke, 2003; Serrani *et al.*, 2008; Dorcey *et al.*, 2009). No obstante en mango, se requiere de futuros trabajos en este aspecto para apoyar esta suposición.

Experimento 3. Tamaño de fruto, contenido de carbohidratos, número y tamaño de células

Los biorreguladores de crecimiento incrementaron el tamaño de frutos partenocárpicos tanto en longitud como en diámetro. Se logró un incremento de 20% con una aplicación de TDZ en floración y tres aplicaciones de AG₃ a 15+30+45 DDF y de 23% con cuatro aplicaciones de TDZ+AG₃ a 15+30+45+60 DDF, respecto a los frutos sin biorregulador. En frutales, de acuerdo a varios autores, el aumento en tamaño es debido a que los biorreguladores incrementan la fuerza de la demanda modificando el patrón de distribución de fotosintatos (Pérez y Gómez, 2000; Agusti *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2007; Khalid *et al.*, 2012). Nuestros resultados no coinciden con los reportes anteriores, por lo que en mango 'Ataulfo' el tamaño logrado en frutos partenocárpicos no estuvo en función de la acumulación de azúcares. Aunque, coinciden con los encontrados por Cano-Medrano y Darnell (1977a) donde el tamaño de frutos de arándano tanto polinizados como tratados con AG₃ no dependió de la capacidad para acumular azúcares. Lo anterior indica que la respuesta de la distribución de los fotosintatos está en función del tipo de fruto y la especie.

En frutos polinizados y partenocárpicos, glucosa mostró bajo contenido durante las primeras etapas de desarrollo y descendió en la etapa de rápido crecimiento de fruto, mientras que fructosa permaneció más o menos estable durante todo el crecimiento, mostrando niveles ligeramente más altos que glucosa. Los resultados coinciden con los obtenidos en mango 'Irwin' por Wei *et al.* (2013) y 'Keitt' por Bernardez-Silva *et al.* (2008) mencionando que en las primeras etapas de desarrollo, glucosa y fructosa pueden ser utilizadas tanto para sintetizar almidón como para respiración.

El contenido de sacarosa en ambos tipos de frutos, fue prácticamente insignificante en las primeras etapas de desarrollo (15 – 45 DDF; división y elongación celular) y se incrementó a partir de los 60 DDF logrando un incremento de casi 100%

en madurez fisiológica. De acuerdo a varios autores durante las primeras etapas de desarrollo, la sacarosa transportada de las hojas a fruto en desarrollo, es hidrolizada por enzimas como sacarosa sintasa al entrar a la célula vía simplasto e invertasa ácida o de pared celular al entrar vía apoplasto, para proporcionar el carbono demandado durante el desarrollo (Koch, 2004; Bernardez-Silva *et al.*, 2008). Al respecto, Wei *et al.* (2013) reportan una alta actividad de Invertasa ácida en frutos en desarrollo de mango 'Irwin'.

Por otro lado, independientemente del tipo de fruto y la aplicación de biorreguladores, sacarosa fue el azúcar de mayor presencia en frutos con madurez fisiológica. Lo anterior indica que este disacárido es el principal azúcar desde madurez fisiológica hasta maduración (postcosecha) y es el responsable de la dulzura del fruto. Los resultados encontrados se refuerzan con los obtenidos por Castrillo *et al.* (1992); Bernardez-Silva *et al.* (2008) y Wei *et al.* (2013), en mango 'Haden', 'Keitt' e 'Irwin', respectivamente. De acuerdo con estos autores, en la etapa de maduración la degradación de almidón en fruto está altamente correlacionada con la acumulación de sacarosa. Varios autores coinciden que en esta etapa la síntesis de sacarosa es debido a la actividad de la enzima sacarosa fosfato sintasa (Hubbard *et al.*, 1991; Castrillo *et al.*, 1992; Wei *et al.*, 2013)

Por otro lado, el número de células se incrementó en frutos partenocárpicos independientemente de la aplicación de biorreguladores en las Etapas I y II del desarrollo del fruto, con una tendencia hacia un incremento acorde al desarrollo del mismo. Por efecto de tratamientos, se logró un incremento de 30% en frutos tratados con una aplicación de TDZ en floración y tres aplicaciones de AG₃ a 15+30+45 DDF, en la Etapa I de desarrollo de fruto (15 DDF), lo anterior con relación al testigo. Lo que sugiere la acción del TDZ (citocinina) en división celular durante esa etapa. Al inicio de la Etapa II (30 DDF) el incremento fue de 12% respecto al testigo con el mismo tratamiento, pero al final de la etapa (45 DDF) la diferencia entre este y el testigo fue de ≈24%. Los resultados indican que la aplicación de citocininas (TDZ) fue clave al momento de floración para inducir mayor división celular y por lo tanto mayor número de células, lo que probablemente se asocia con el tamaño logrado en frutos partenocárpicos. Los resultados coinciden con lo reportado en diversos frutales, donde

hay evidencias que los biorreguladores de crecimiento inducen amarre y desarrollo de frutos partenocárpicos, afectando división y elongación celular (Pérez y Gómez, 2000; Zhang *et al.* 2006). En general, el periodo de división celular del mesocarpo fue de 15 hasta 30 DDF (Figura 5.12), pero en el mesocarpo de frutos testigo se observó menor división a 30 DDF (Figura 5.12F). En la Figura 5.12A, se puede observar un mayor número de células a 15 DDF provocado por la acción de TDZ, respecto testigo Figura 5.12C en la misma etapa.

Con relación al tamaño de células, durante la Etapa I, frutos tratados con cuatro aplicaciones de TDZ+AG₃ a 15+30+45+60 DDF, tuvieron células más grandes pero significativamente iguales a testigo. En el mismo tratamiento, a partir del inicio de la Etapa II (30 DDF) y hasta el final de la Etapa (45 DDF) el tamaño se incrementó 30% con relación al testigo y 23% respecto a frutos con una aplicación de TDZ en floración y tres aplicaciones de AG₃ a 15+30+45 DDF. El incremento logrado en el tamaño de células de frutos partenocárpicos puede explicar, al igual que el logrado en número de células, el aumento en longitud y diámetro de fruto y por ende en el tamaño del mismo; indicando que las aplicaciones repetidas de TDZ y GAs estimularon la elongación celular y por lo tanto el tamaño del fruto. Los resultados coinciden con los obtenidos en frutales como vid (Pérez y Gómez, 2000) y en pera 'Kousui' (Zhang *et al.* 2006), donde el incremento en tamaño de fruto lo asociaron con un incremento en el tamaño de células del mesocarpo por la acción de GAs. En arándano, las diferencias en tamaño de fruto fueron asociadas principalmente a diferencias en tamaño de células, pero el número de células tuvo una menor relación (Cano-Medrano y Darnell, 1997b).

Por otro lado, aun cuando se incrementó el tamaño de frutos partenocárpicos, este no superó al de los polinizados. La diferencia radicó en que, aunque los biorreguladores estimularon división y elongación celular en frutos partenocárpicos, el tamaño de las células en frutos polinizados fue mayor (Figura 5.13A).

Conclusiones

Se logró mayor amarre de frutos con cuatro aplicaciones combinadas de TDZ+AG3 en Etapa II del crecimiento del fruto (15+30+45+50 DDF) y con TDZ en Etapa I y cuatro aplicaciones de AG₃ en Etapa II (15+30+45+60).

En ambos experimentos, se incrementó el tamaño de los frutos partenocárpicos tanto en longitud como peso fresco con una aplicación de AG₃ en Etapa II (60 DDF), con cuatro aplicaciones de TDZ+AG₃ en Etapa II (15+30+45+60 DDF), y con TDZ en Etapa I y cuatro aplicaciones de AG₃ en Etapa II (15+30+45+60 DDF).

TDZ en Etapa I + tres aplicaciones de AG₃ en Etapa III (15, 30 y 45 DDF) incrementó el rendimiento, mientras que el porcentaje de frutos PRT producidos fue menor con la combinación de TDZ (Etapa I) + 1-4 aplicaciones de AG₃ en Etapa II.

Aparentemente TDZ es suficiente para amarre y combinado con AG₃ son necesarios para iniciar el crecimiento y desarrollo de fruto.

La aplicación de TDZ y AG3, no incrementó la fuerza de la demanda en frutos partenocárpicos, de mango 'Ataulfo', por lo que el incremento logrado en tamaño de los mismos, no está asociada con la distribución de fotosintatos.

Sacarosa fue el principal azúcar en frutos de mango 'Ataulfo' en la Etapa III del desarrollo.

El incremento logrado en el tamaño de frutos partenocárpicos estuvo asociado a una mayor división y elongación celular.

Los frutos polinizados tienen células más grandes que los partenocárpicos.

Cuadro 5.1. Número de frutos·inflorescencia⁻¹ a 45 DDF (inicial) y dos semanas antes de cosecha (final) en árboles de mango ‘Ataulfo’ tratados con 50 mg·L⁻¹ de AG₃. Nayarit, México. 2014.

Tratamiento	Época de aplicación (DDF) ^z	Frutos·inflorescencia ⁻¹ (Núm.)		Amarre (%) ^y
		Inicial	Final	
1. AG ₃	(0)	3.4 c ^x	0.8 b	24 b
2. AG ₃	(15)	3.1 c	1.0 b	32 a
3. AG ₃	(30)	5.8 a	1.7 a	29 ab
4. AG ₃	(45)	5.2 ab	1.3 ab	25 b
5. AG ₃	(60)	4.0 bc	1.0 b	25 b
6. TDZ + AG ₃	(15+30+45+60)	5.6 ab	1.7 a	30 a
7. Testigo	Sin aplicación	3.4 c	0.9 b	26 b

^z DDF, días después de plena floración

^y (Núm. de frutos final/núm. de frutos inicial)x100.

^x Medias con la misma letra dentro de columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una P≤0.05

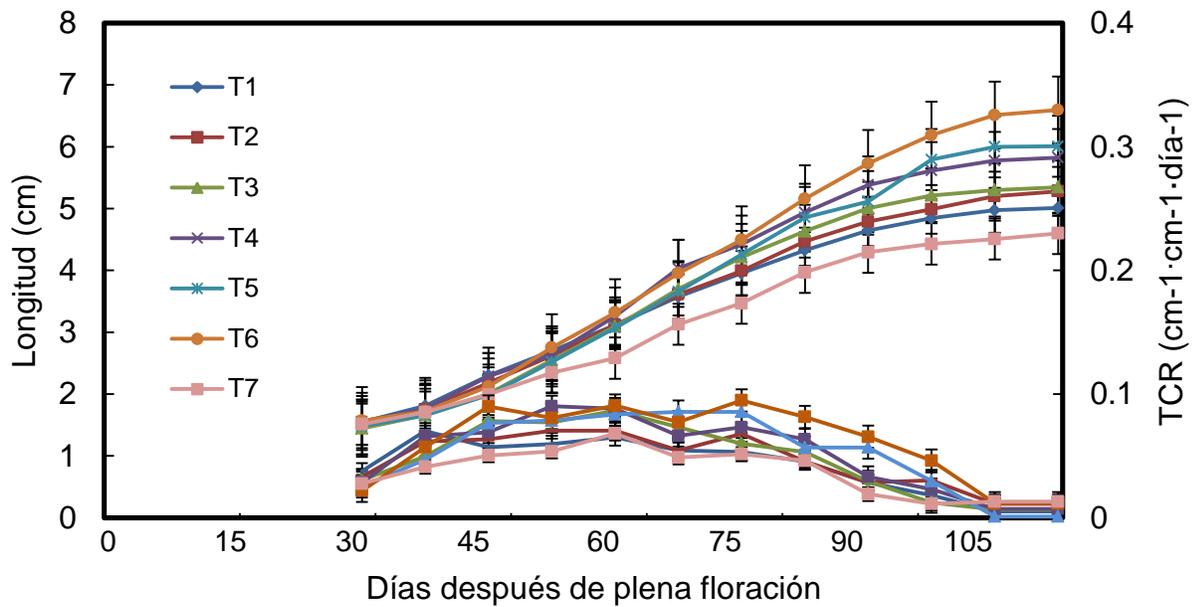


Figura 5.1. Crecimiento acumulado y tasa de crecimiento relativo de frutos PRT de mango 'Ataulfo' tratados con aplicaciones simples de AG_3 ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y en combinación con TDZ ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en aplicaciones repetidas. T1 = AG_3 0 DDF, T2 = 15 DDF, T3 = 30 DDF, T4 = 45 DDF, T5 = 60 DDF, T6 = AG_3 + TDZ a 15+30+45+60 DDFy T7 = testigo. Las barras en cada punto representan el promedio de 24 frutos por tratamiento \pm error estándar. Nayarit, México. 2014

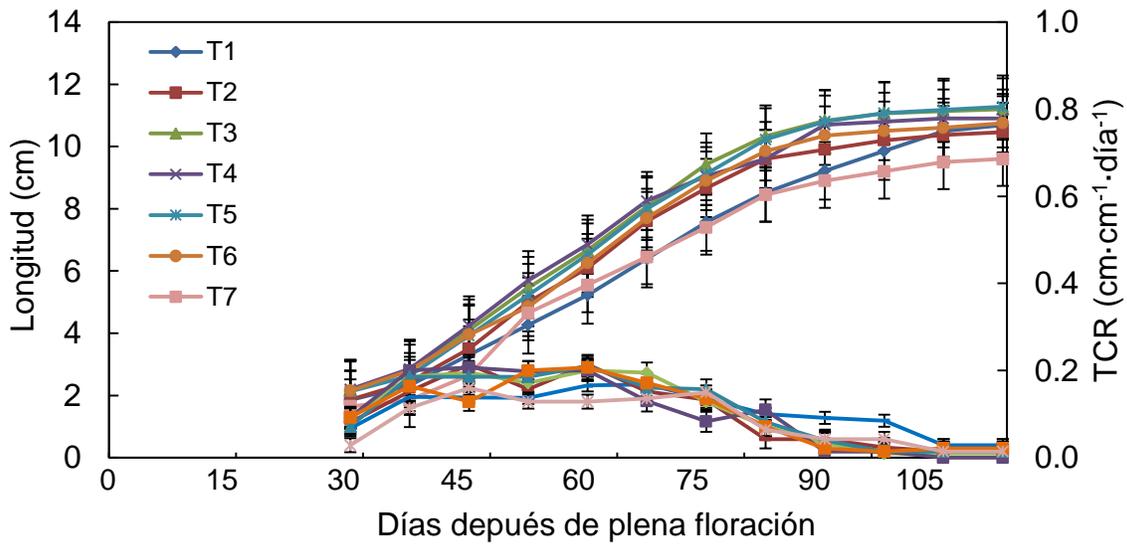


Figura 5.2. Crecimiento acumulado y tasa de crecimiento relativo de frutos POL de mango 'Ataulfo' tratados con aplicaciones simples de AG_3 ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y en combinación con TDZ ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) en aplicaciones repetidas. T1 = AG_3 0 DDF, T2 = 15 DDF, T3 = 30 DDF, T4 = 45 DDF, T5 = 60 DDF, T6 = AG_3 + TDZ a 15+30+45+60 DDF y T7 = testigo. Las barras en cada punto representan el promedio de 24 frutos por tratamiento \pm error estándar. Nayarit, México. 2014

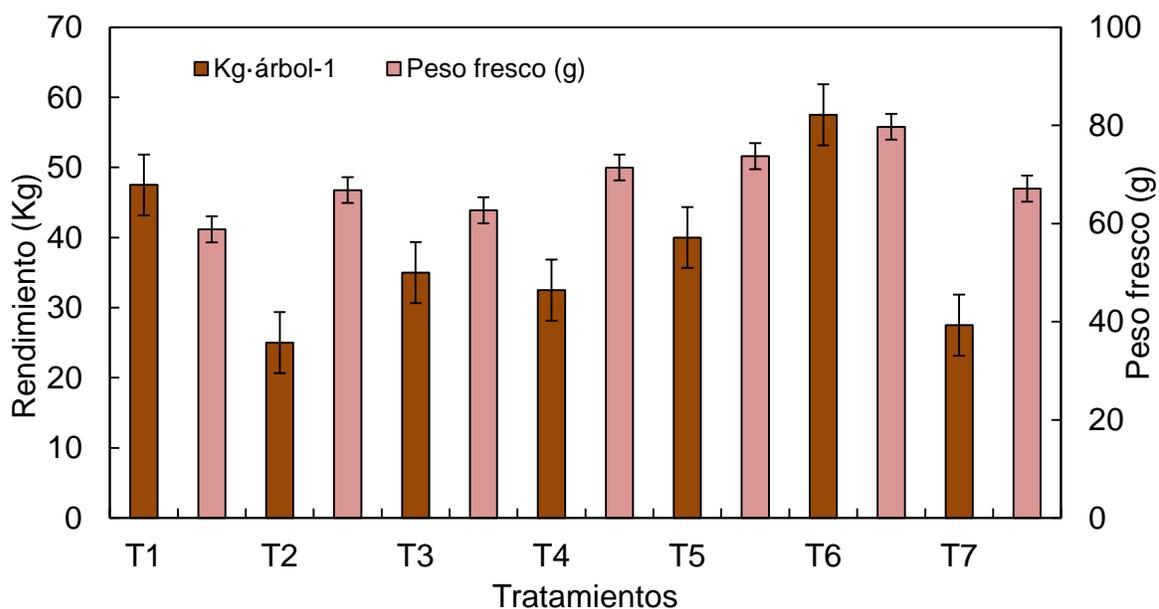


Figura 5.3. Rendimiento y peso fresco obtenido en árboles de mango 'Ataulfo' tratados con aplicaciones simples de AG_3 y en combinación con TDZ. T1 = AG_3 0 DDF, T2 15 DDF, T3 30 DDF, T4 45 DDF, T5 60 DDF, T6 AG_3 + TDZ a 15+30+45+60 DDF y T7 testigo. Las barras en columnas representan el promedio de seis árboles por tratamiento \pm error estándar. Nayarit, México. 2014

Cuadro 5.2. Número de frutos·inflorescencia⁻¹ a 45 DDF (inicial) y dos semanas antes de cosecha (final) en mango 'Ataulfo'. Nayarit, México, 2014.

Tratamiento	Época (DDF) ^z y Número de Aplicaciones	Frutos·inflorescencia ⁻¹ (Núm.)		Amarre ^y (%)
		Inicial	Final	
1 TDZ + AG ₃	(0) + (15)	9.3 bc ^x	1.3 b	14 ab
2 TDZ + AG ₃	(0) + (15+30)	14.5 ab	1.3 b	9 b
3 TDZ + AG ₃	(0) + (15+30+45)	11.4 abc	1.3 b	11 b
4 TDZ + AG ₃	(0) + (15+30+45+60)	16.1 a	2.5 a	16 ab
5 Testigo	Sin aplicación	5.9 c	1.1 b	19 a

^z DDF, días después de plena floración

^y (Núm. de frutos final/núm. de frutos inicial)x100.

^x Medias con la misma letra dentro de columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una P≤0.05

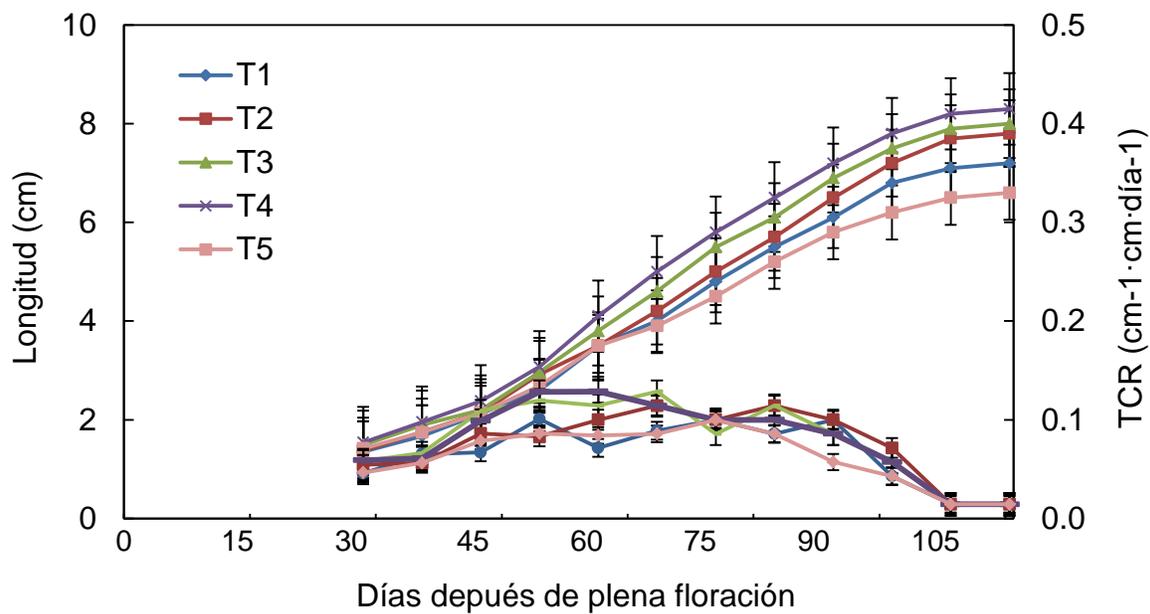


Figura 5.4. Crecimiento acumulado y tasa de crecimiento relativo de frutos PRT de mango 'Ataulfo' tratados con TDZ a los 0 DDF + AG₃ a los 15 (T1) 15+30 (T2), 15+30+45(T3) y 15+30+45+60 (T4) DDF y testigo (T5). Las barras en cada punto representan el promedio de 32 frutos por tratamiento ± error estándar. Nayarit, México. 2013.

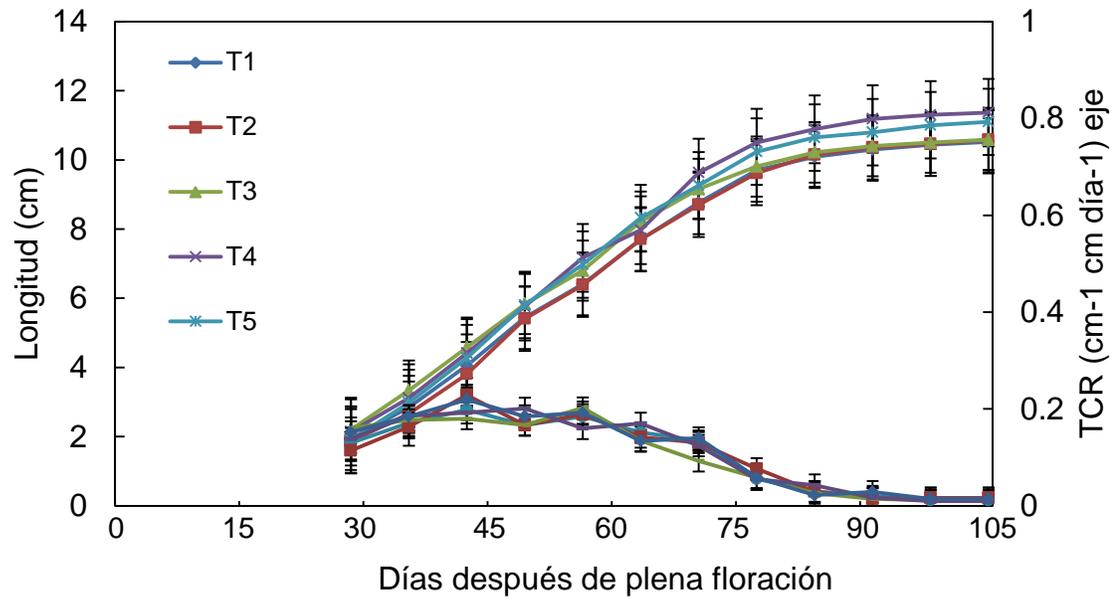


Figura 5.5. Crecimiento acumulado y tasa de crecimiento relativo de frutos POL de mango 'Ataulfo' tratados con TDZ a los 0 DDF + AG₃ a los 15 (T1) 15+30 (T2), 15+30+45(T3) y 15+30+45+60 (T4) DDF y testigo (T5). Las barras en cada punto representan el promedio de 32 frutos por tratamiento ± error estándar. Nayarit, México. 2013.

Cuadro 5.3. Rendimiento y peso fresco de frutos partenocárpicos (PRT) y polinizados (POL) de mango 'Ataulfo' tratados con TDZ a 0 DDF +1-4 aplicaciones de AG₃. Nayarit, México. 2014.

Tratamiento	Rendimiento (Kg·árbol ⁻¹)	Peso fresco (g)	
		PRT	POL
1	48.7 a ^z	105.3 a	259.5 b
2	45.0 a	104.8 a	277.9 ab
3	46.9 a	126.0 a	279.9 ab
4	57.5 a	116.9 a	299.5 ab
5	41.2 b	66.2 b	315.7 a

^z Medias con la misma letra dentro de columna son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una P≤0.05

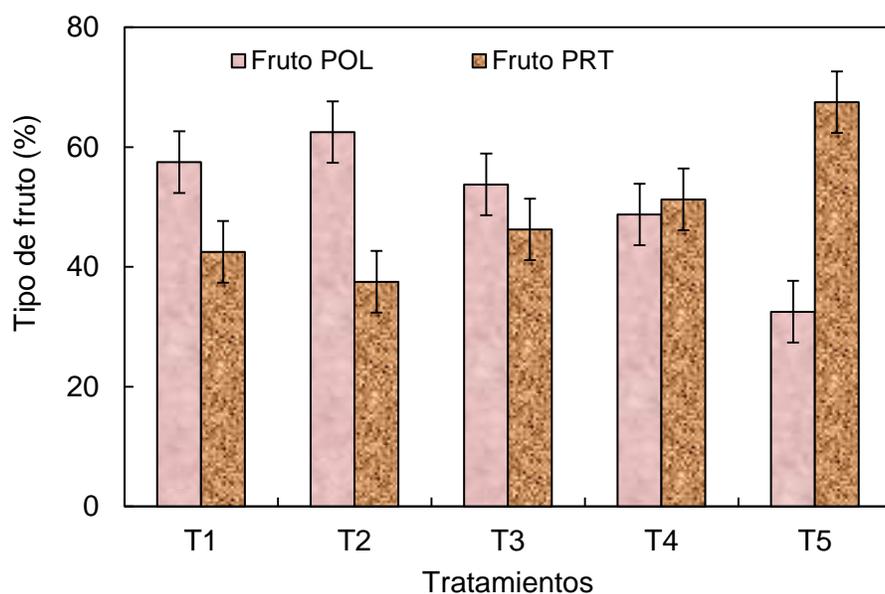


Figura 5.6. Porcentaje de frutos polinizados (POL) y partenocárpico (PRT) obtenido en árboles de mango ‘Ataulfo’ tratados con TDZ a 0 DDF + AG₃ a 15 (T1) 15+30 (T2), 15+30+45(T3) y 15+30+45+60 (T4) DDF y testigo (T5). Nayarit, México, 2013. Las barras en columnas representan el promedio de ocho árboles por tratamientos ± error estándar.

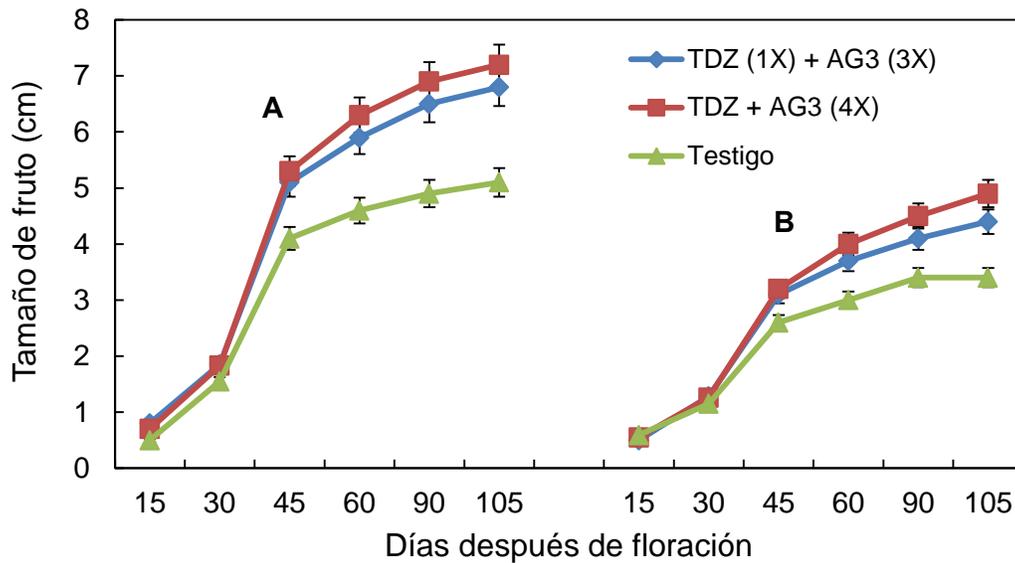


Figura 5.7. Longitud (A) y diámetro (B) de frutos partenocárpicos con y sin aplicación de biorregulador de crecimiento. 1X, una aplicación a 0 DDF; 3X, tres aplicaciones a 15+30+45 DDF; 4X, cuatro aplicaciones a 15+30+45+60. Las barras en cada punto representan el promedio de 12 frutos por tratamiento \pm error estándar.

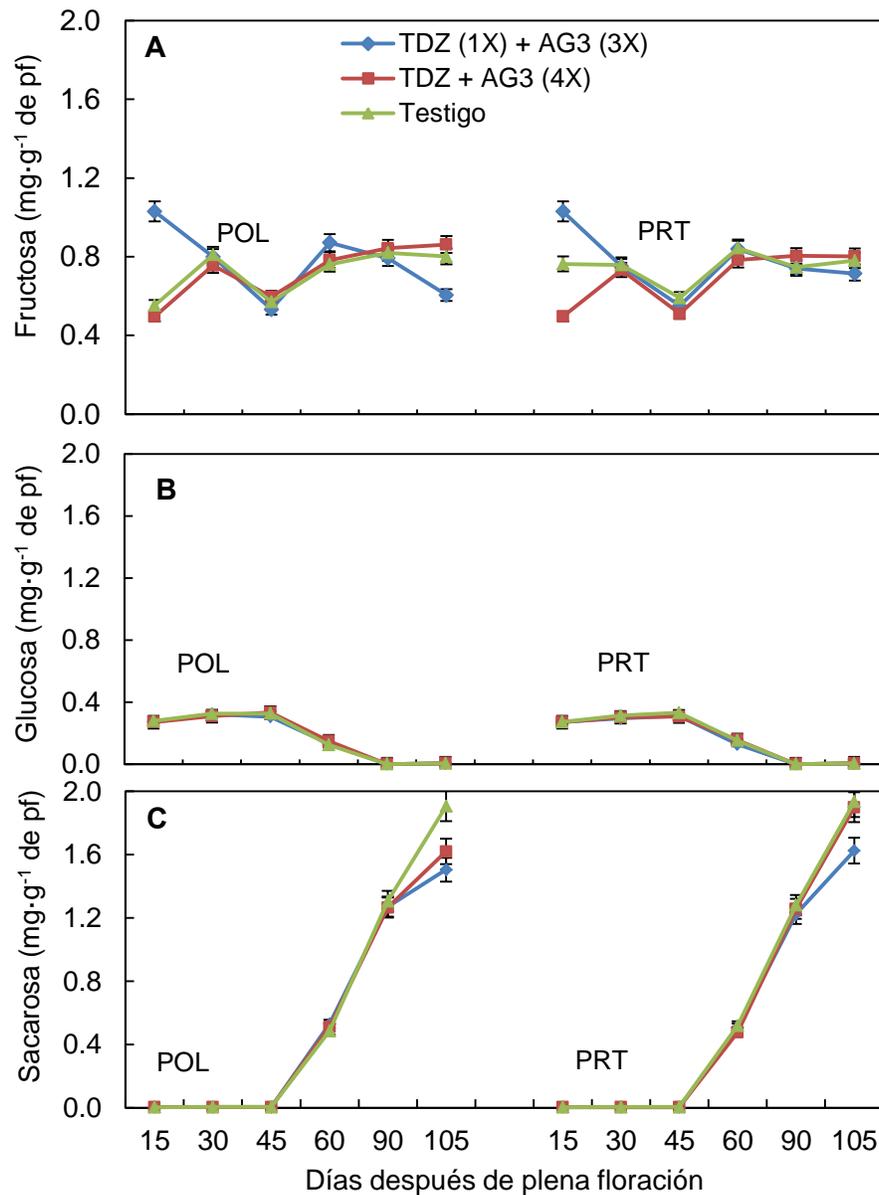


Figura 5.8. Contenido de fructosa (A), glucosa (B) y sacarosa (C) en frutos partenocárpicos (PRT) y polinizados (POL) de mango ‘Ataulfo’. 1X, una aplicación a 0 DDF; 3X, tres aplicaciones a 15+30+45 DDF; 4X, cuatro aplicaciones a 15+30+45+60 DDF. Las barras en cada punto representan el promedio de 3 repeticiones por tratamiento \pm error estándar.

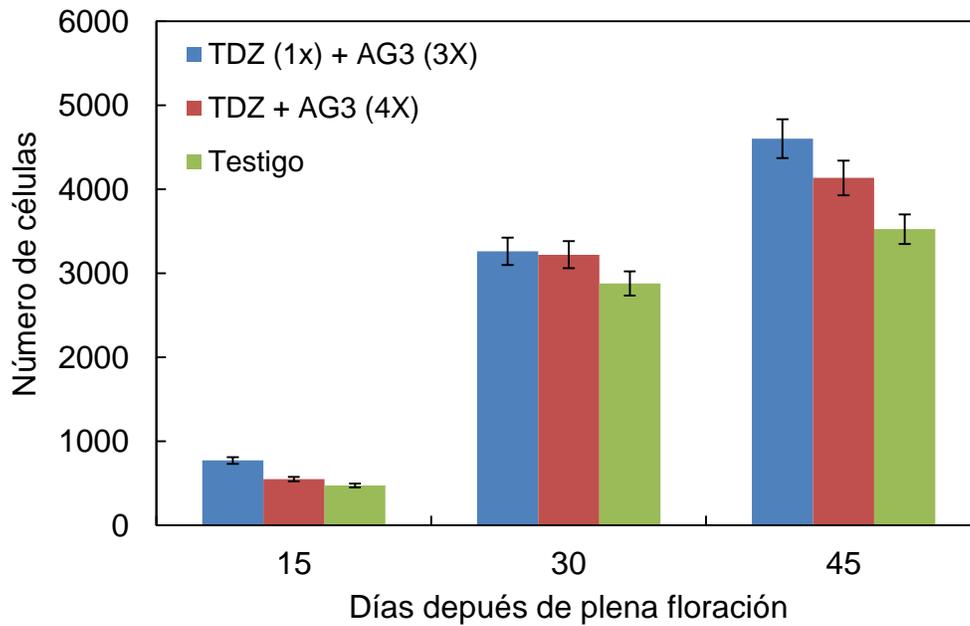


Figura 5.9. Número de células de la sección transversal del mesocarpio de frutos partenocárpicos en desarrollo de mango 'Ataulfo'. 1X, una aplicación a 0 DDF; 3X, tres aplicaciones a 15+30+45 DDF; 4X, cuatro aplicaciones a 15+30+45+60 DDF. Las barras en columna representan el promedio de 12 secciones por tratamiento \pm error estándar.

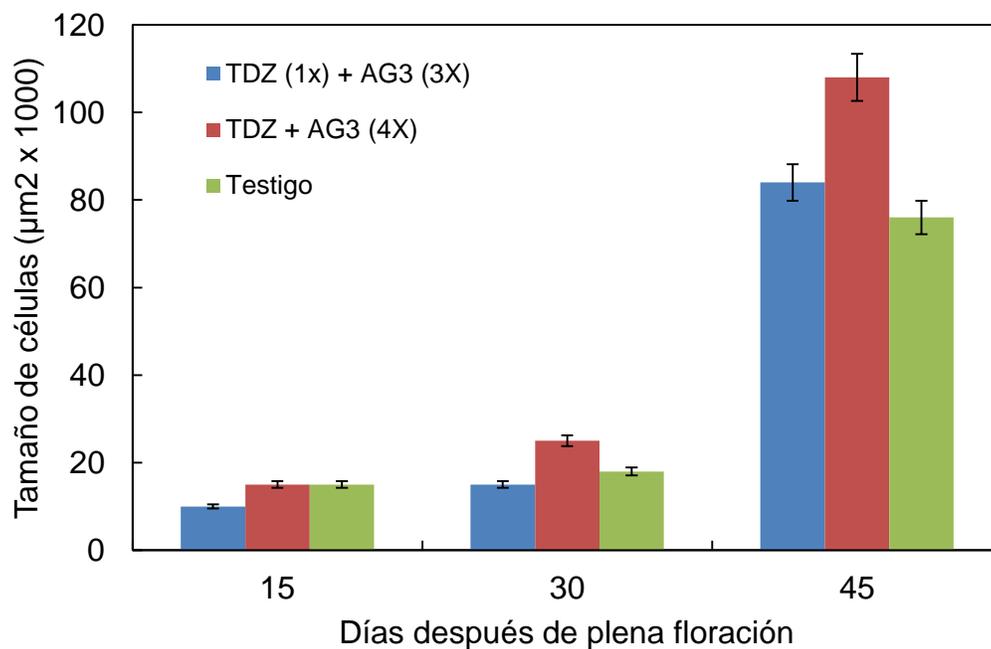


Figura 5.10. Tamaño de células de la sección transversal del mesocarpio de frutos partenocárpicos en desarrollo de mango 'Ataulfo'. 1X, una aplicación a 0 DDF; 3X, tres aplicaciones a 15+30+45 DDF; 4X, cuatro aplicaciones a 15+30+45+60 DDF. Las barras en columna representan el promedio de 20 células por tratamiento \pm error estándar.

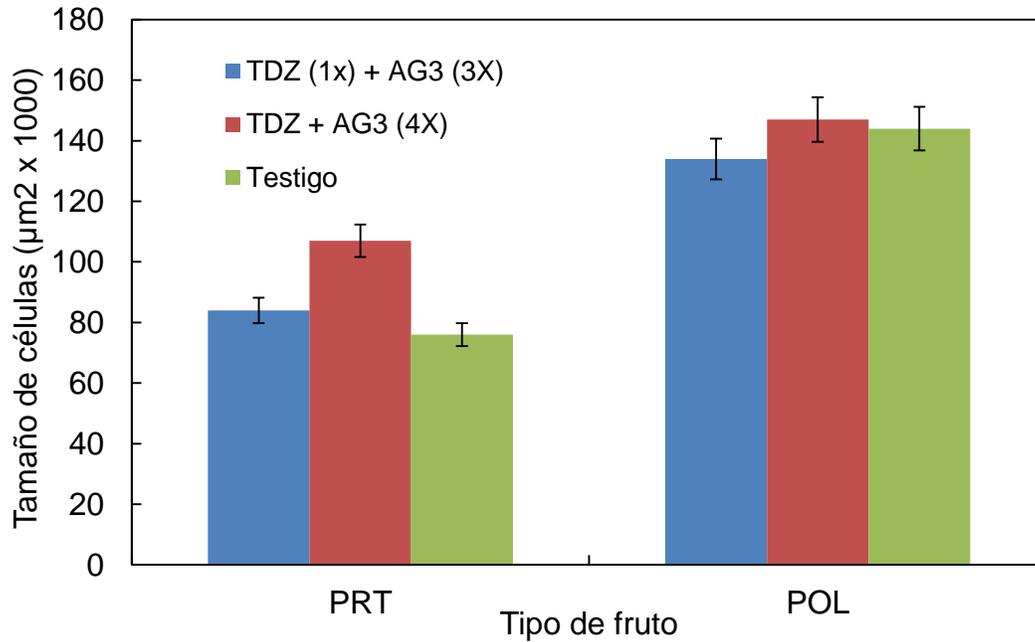


Figura 5.11. Tamaño de células de la sección transversal del mesocarpio de frutos partenocárpicos y polinizados de mango 'Ataulfo', 45 días DDF. 1X, una aplicación a 0 DDF; 3X, tres aplicaciones a 15+30+45 DDF; 4X, cuatro aplicaciones a 15+30+45+60 DDF. Las barras en columna representan el promedio de 12 secciones por tratamiento \pm error estándar.

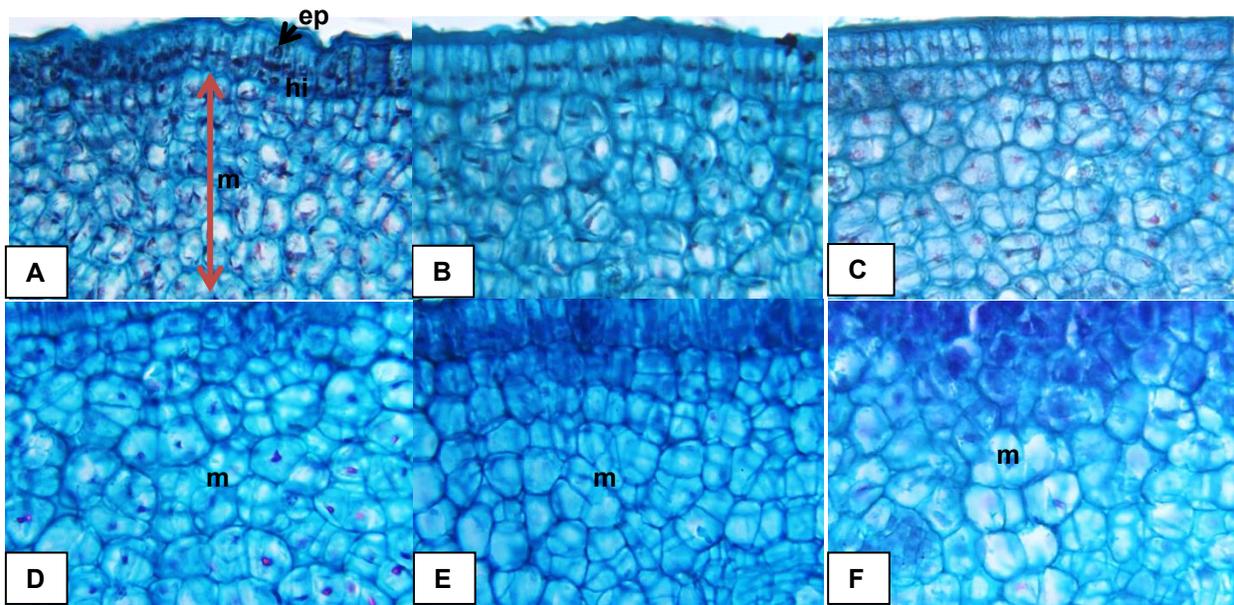


Figura 5.12. Número de células en mesocarpio de frutos partenocárpicos de mango 'Ataulfo' con una aplicación de TDZ a 0 DDF + tres aplicaciones de AG₃ a 15+30+45 DDF en la Etapa I de rápido crecimiento de fruto (**A**) e inicio de Etapa II (**D**). Número de células en frutos tratados con cuatro aplicaciones de TDZ+AG₃ a 15+30+45+60 DDF en la Etapa I de rápido crecimiento de fruto (**B**) e inicio de Etapa II (**E**). Número de células en frutos sin biorregulador de crecimiento en la Etapa I de rápido crecimiento de fruto (**C**) e inicio de Etapa II (**F**). ep, epicarpo; hi, hipocarpo; m, mesocarpo.

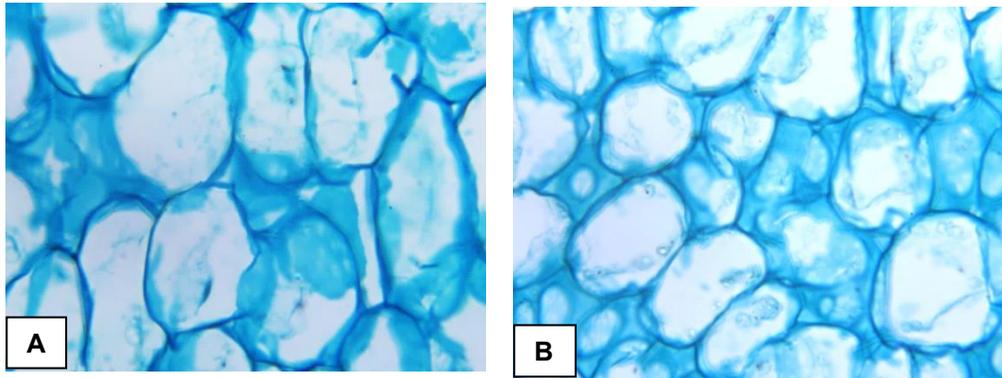


Figura 5.13. Tamaño de células en frutos polinizados (**A**) y partenocárpicos (**B**) a 45 DDF, tratados con cuatro aplicaciones de TDZ+AG3 a 15+30+45+60 DDF. Nótese el mayor tamaño de células en el mesocarpio de frutos polinizados (A).

CAPÍTULO VI. TIPOLOGÍA DE PRODUCTORES Y RENTABILIDAD

Introducción

Una tipografía es el agrupamiento de productores, fincas o explotaciones que presentan ciertas características similares. Se le podría definir como una herramienta metodológica. Mediante esta herramienta, es posible conocer las dinámicas del desarrollo agrario, facilitar la definición de políticas de investigación y transferencia de tecnología, facilitar la gestión de productos, pero sobre todo identificar y conocer las unidades de producción (López-Roldan, 1996).

La tipología de productores realizada en un sistema familiar retomó dos perspectivas teóricas: la económica y la sociológica. El mayor número de variables fueron económicas ya que de acuerdo con algunos autores “muestran mayor variación que los factores socioculturales”, aunque también se utilizan variables sociales (Köbrich *et al.*, 2003; Bidogez *et al.*, 2009). Otros consideran factores externos a la unidad productiva del orden natural, espacial y económico, como es el impacto de la nueva ocupación del productor en la producción agrícola y el impacto del factor espacial en la decisión de los productores de diversificar su ocupación (McElwee y Bosworth, 2010).

En México existen diversos trabajos de tipificación. En nuez pecanero (*Carya illinoensis* Koch.) se identificaron las diferencias entre producción en ejido y pequeña propiedad, utilizando variables socioeconómicas (Orona *et al.*, 2006). Mientras que, en nogal de castilla identificaron tres tipos de unidades de producción y concluyeron que variables del factor espacial, en términos de las relaciones de mercado, diferencian las unidades de producción de nogal de Castilla en la región Sierra Nevada de Puebla (Luna-Méndez *et al.*, 2013).

En otro esquema, rentabilidad es un término general que mide la ganancia que puede obtenerse en una situación particular. Se menciona que es el denominador común en todas las actividades productivas y para definir el concepto es necesario conocer los parámetros adecuados. En el caso de un cultivo agrícola; los costos de producción, rendimiento por unidad de superficie y el valor de la producción, son importantes porque conducen a obtener una relación beneficio/costo que determina la

rentabilidad de ese cultivo en particular. Una definición más precisa es que, es un índice que mide la relación entre la utilidad o ganancia obtenida, y la inversión o recursos que se utilizaron para obtenerla (FIRA, 2011).

Bajo este contexto, se han realizado varios estudios para conocer la rentabilidad de cultivos agrícolas, bien sea anuales como tomate rojo (Hernández-Martínez *et al.*, 2004; Terrones y Sánchez, 2011) y amaranto (Ayala-Garay *et al.*, 2014) y/o perennes incluyendo frutales.

Con respecto a frutales, en litchi, derivado de los altos rendimientos por árbol, el periodo de cosecha y el precio de venta obtenido, el estudio mostró una relación Beneficio/Costo mayor a 1 en la unidad de producción familiar por lo que el cultivo fue rentable, desplazando por completo el cultivo del café y de manera gradual otros como naranjo y plátano (Carrillo-Ángeles *et al.*, 2010). En naranjo 'Valencia' se obtuvo una utilidad neta de \$15,800.000 por ha y una relación Beneficio/Costo (B/C) de 3.23, mientras que para la lima Tahití, el tangelo Minneola y la mandarina Arrayana la relación B/C fue de: 2.04, 1.36 y 1.11, respectivamente (Mateus *et al.*, 2010).

En papaya se demostró que la aplicación de tecnología baja parece ser rentable para los productores quienes en su mayoría poseen entre 1 y 4 hectáreas. Mientras que la tecnología media fue rentable para los productores cuya superficie fue entre 5 y 10 hectáreas, aplicando buenas prácticas de cultivo que les permitió producir con mayor rendimiento y productividad. De manera similar para productores con alta tecnología y superficie arriba de 10 ha, el cultivo fue considerablemente rentable (Guzmán *et al.*, 2009).

El objetivo del presente trabajo fue conocer, mediante la tipificación, a los productores de mango en Nayarit y determinar la rentabilidad del cultivo considerando las tecnologías generadas en los capítulos anteriores.

Materiales y Métodos

Tipificación de productores

La región de estudio se delimitó con el criterio de municipios con mayor superficie de mango 'Ataulfo' en el Estado, se utilizó la información del Padrón de Productores de mango del Comité Estatal de Sanidad Vegetal, dependiente de SAGARPA-Nayarit. Los municipios considerados fueron: San Blas, Tepic y Santiago.

En estos municipios, se realizó una estratificación de productores considerando la superficie de mango 'Ataulfo' de cada uno de ellos y se definieron cuatro estratos. Mediante el padrón se delimitó el número de productores por estrato y se definió la muestra de productores para cada uno de ellos mediante un muestreo aleatorio simple (Cuadro 6.1).

Cuadro 6. 1. Número de productores por estrato (superficie en ha) y tamaño de muestra.

Superficie (ha)	Núm. De productores	
	Por estrato	Muestra
≥ 20	36	4
≥ 10 - < 20	111	6
≥ 5 - < 10	397	25
≥ 1 - < 5	2836	40
Total	3380	75

Se realizaron 75 encuestas durante el periodo de enero – septiembre de 2014 con un cuestionario estructurado y organizado en cuatro secciones: información socioeconómica del productor, espacial, producción del predio y comercialización del producto.

Las variables evaluadas fueron:

Socioeconómicas. Nombre, edad, superficie para mango 'Ataulfo', escolaridad, número de jornales que emplea, costo de las prácticas de que aplica en el cultivo, costo de insumos, apoyos que recibe.

Espaciales: Municipio, localidad, donde adquiere sus insumos.

Producción: Rendimiento por ha, precio del producto.

Comercialización: A quien le vende, cuando vende, destino de su producción, cuando recibe el pago.

Análisis de información

La información obtenida se exploró y analizó utilizando estadística descriptiva

Rentabilidad del cultivo

Para cada estrato, se consideraron los costos de producción del cultivo, con y sin tecnologías generadas en la investigación, rendimiento por hectárea y valor de la producción, para determinar la relación beneficio costo y por ende la rentabilidad del cultivo.

La relación beneficio costo se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Beneficio/costo} = \frac{\text{Rendimiento (ton/ha)} \times \text{Precio de producto/ton}}{\text{Costos de cultivo}}$$

Si B/C=1, significa que el proyecto no genera pérdidas ni ganancias, es decir, lo que se invierte se recupera; si B/C < 0, implica que el proyecto genera pérdidas; y si B/C > 0, el proyecto presenta rentabilidad económica, es decir, genera ganancia (Perdomo, 2001; Muñante, 2002).

Resultados

Tipificación de productores

Los resultados de las entrevistas se muestran en el Cuadro 6.2, los productores que aplican una mejor tecnología en sus huertos son aquellos con mayor superficie (estrato 1 y 2; > de 20 ha y entre 10-20, respectivamente), una característica sobresaliente entre ellos es que al menos el 50% aplica riego y nutrición a sus huertos, incluyendo en este último lo orgánico. Sobre todo, el 100% de productores en el primer estrato fertilizan sus huertos. En el tercer estrato, productores con una superficie entre 5 y 10 ha, usan una tecnología media; lo que significa, que la mayoría solo se preocupa por podar y mantener limpios sus huertos, no obstante, prácticas importantes como riego y nutrición son realizadas por un bajo porcentaje de ellos (25, 45%, respectivamente).

La tecnología de productores con una superficie entre 1-5 ha, (cuarto estrato), es la más baja aplicada comparada con los estratos anteriores, se encontraron bajos porcentajes de productores que aplican riego (19%), nutrición (13%) y sanidad (24%) en sus huertos. Por otro lado, este tipo de productores representa más del 80% de la población total que se dedica a la producción de mango 'Ataulfo'. Mientras que una minoría está representada en los estratos 1 y 2.

Considerando las prácticas de manejo realizadas en cada estrato así como el costo de cada una de ellas, mencionado por los productores entrevistados, se determinó los costos de cultivo en cada estrato (Cuadro 6.3). Se encontró que los productores con una superficie > a 20 ha (estrato 1) invierten alrededor de 25 mil pesos por ha, productores con superficie entre 10 y 20 ha (estrato 3), invierten aproximadamente \$ 7600.00/ha, mientras que en los estratos 3 (entre 5 y 10 ha) y 4 (entre 1 y 5 ha), el productor invierte poco más de \$ 4000.00 y \$ 3800.00/ha, respectivamente. De acuerdo a las entrevistas, el rendimiento por ha fue de 18.5, 12, 7.4 y 4.4 ton/ha en los estratos 1, 2, 3 y 4, respectivamente. El costo de cultivo está relacionado con las prácticas realizadas en el huerto en cada uno de los estratos, es decir, entre más tecnificado esté el huerto mayores serán los costos de cultivo, lo que significó también un mayor rendimiento.

Con los datos anteriores y el valor de la producción (precio/ton, mencionado por los productores), se obtuvo una relación beneficio/costo de 4.4, 3.1, 3.6 y 2.3 para los estratos 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Lo que significa que el cultivo del mango es rentable aun en los estratos con menor superficie y menor tecnología aplicada, aunque esta rentabilidad es menos de la mitad a la obtenida en el estrato 1 (Cuadro 6.4).

Rentabilidad del cultivo con relación a tecnologías generadas

Las tecnologías generadas para amarre y crecimiento de fruto fueron las siguientes:

1. Cuatro aplicaciones de TDZ+AG₃ (50 mg·L⁻¹ c/uno) a 15+30+45+60 después de floración (DDF), logrando un incremento de 53% en el rendimiento.
2. Una aplicación de TDZ (0 DDF) + cuatro aplicaciones de AG₃ a 15+30+45+60 DDF, (50 mg·L⁻¹ c/uno), con incremento en el rendimiento de 30%.
3. Una aplicación de TDZ (0 DDF) + tres aplicaciones de AG₃ a 15+30+45 DDF, (50 mg·L⁻¹ c/uno), con un incremento de 13% en rendimiento.

Para floración irregular las tecnologías generadas fueron las siguientes:

1. Una aplicación de prohexadiona de calcio (P-Ca) 1500 mg·L⁻¹, a 30 días después de la poda (DDP) logrando un incremento de 55% en rendimiento.
2. Una aplicación de paclobutrazol (PBZ) 2500 mg·L⁻¹, a 30 DDP, con un incremento en rendimiento de 50%.

El costo de las tecnologías generadas para amarre y crecimiento de fruto fue de \$ 5560.00, \$ 5530.00 y \$ 4308.00 si se realizaran cuatro aplicaciones de TDZ+AG₃, una aplicación de TDZ + cuatro de AG₃, o bien una de TDZ + tres de AG₃, respectivamente, lo anterior considerando el precio de los productos, cantidad utilizada, número de aplicaciones y costo de jornales por ha (Cuadro 6.5). De la misma manera, el costo de las tecnologías para floración sería de \$ 3580.00 y 2930.00 aplicando P-Ca o PBZ, respectivamente (Cuadro 6.6).

En el Cuadro 6.7 se muestran los costos de cultivo, agregando a los del productor, la aplicación de una de las tecnologías generadas para incrementar amarre y crecimiento de fruto (Una aplicación de TDZ a 0 DDF + tres aplicaciones de AG₃ a 15+30+45 DDF) y la aplicación de PBZ para evitar floración irregular. Se observa que los costos de producción en el estrato 1, ascienden a \$ 32287.00, en el estrato 2 a \$14851.00; \$ 11336 en el estrato 3 y \$ 10543 en el cuatro. No obstante considerando el incremento en producción logrado tan solo con la aplicación de PBZ (50%), se obtiene un rendimiento de 27.8, 18, 11.1 y 6.6 ton/ha en los estratos 1, 2, 3 y 4 respectivamente.

Con el uso de estas tecnologías, el valor de la producción se incrementa por la oportunidad de mercado al vender el producto fuera de la época normal de producción (Cuadro 6.8). Con el aumento en el rendimiento y valor de la producción se lograría una relación beneficio/costo (B/C) de 5.2, 4.8, 3.9 y 2.5 en los estratos 1, 2, 3 y 4 respectivamente. Estos resultados indican un aumento en la relación B/C en los estratos 1 y 2, respecto al obtenido con la tecnología del productor. La relación B/C en los estratos 3 y 4 es apenas ligeramente superior a la obtenida por los productores sin el uso de la tecnología.

Si se aplicara P-Ca en lugar de PBZ, los costos se aumentan a \$ 32937.2.00 en el estrato 1, \$ 15501.3 en el estrato 2, aproximadamente \$ 12000.00 en el estrato 3 y \$11683.71 en el estrato 4 (Cuadro 6.9). Como puede verse son mayores que cuando se utiliza PBZ para evitar floraciones irregulares. Aunque por el incremento logrado en el rendimiento (55%) con la aplicación de este producto, este se incrementa hasta 28.7, 18.6, 11.5 y 6.8 ton/ha, ligeramente superior al obtenido con el uso de PBZ. De esta manera, la relación beneficio costo es mayor con el uso de P-Ca (Cuadro 6.10), respecto al uso de PBZ, en los estratos 1, 2 y 3; pero no se modifica en el estrato 4.

Los datos anteriores muestran que la aplicación de las tecnologías generadas incide en un incremento de la relación B/C, principalmente en los estratos 1 (15%) y 2 (25%); es decir, con productores que poseen mediana y alta superficie cultivada con mango. El incremento en esta relación para productores que poseen entre 5-10 ha (estrato 3) es apenas de un 5%, mientras que en aquellos que poseen una superficie menor a 5 ha, no se incrementó esta relación con el uso de las tecnologías analizada.

Conclusiones

Los productores que poseen mayor superficie de mango (Estratos 1 y 2), tienen sus huertos más tecnificados, por tanto los costos de cultivo son mayores; pero obtienen mayor rendimiento y mejor relación beneficio/costo que el resto de los productores que poseen menor superficie de este cultivo.

Las tecnologías generadas, ocasionan un aumento en los costos de cultivo. No obstante, también incrementan el rendimiento y la relación beneficio/costo a excepción del estrato 4 con el uso de P-Ca.

Cuadro 6.2. Porcentaje de productores que realizan o aplican tecnologías en el cultivo de mango 'Ataulfo' por estrato.

Actividad	Estrato 1				Estrato 2				Estrato 3				Estrato 4			
	Si	No	Tipo	Familia												
Poda	100	0	Manual y mecánica	0	100	0	Manual	25	88	12	Manual	14	88	12	Manual	29
Maleza	100	0	Químico y mecánico	0	100	0	Químico y mecánico	0	100	0	Mecánico y manual	12	100	0	Mecánico y manual	55
Riego	50	50	Goteo	0	50	50	Gravedad	0	25	75	gravedad	50	29	71	Gravedad	70
Sanidad	50	50	Químico y Químico y orgánico	0	50	50	Químico y Químico y orgánico	0	45	55	Químico y Químico y orgánico	0	13	87	Químico y Químico y orgánico	0
Fertilización	100	0	orgánico		50	50	orgánico		75	25	orgánico		44	56	orgánico	
Cosecha	100												25			

Cuadro 6.3. Costos de cultivo y rendimiento/ha por estrato, con tecnología tradicional.
Datos derivados de las entrevistas.

Estrato	1	2	3	4
Poda	1293.9	1778.5	1421.9	491.0
Maleza	1067.8	1345.1	550.0	490.0
Riego	8050.0	1666.7	406.3	1000.0
Sanidad (plagas y enfermedades)	439.5	625.0	469.3	363.7
fertilizante	2198.0	2198.0	1251.0	851.0
Cosecha	12000.0			600.0
Costo de Producción (\$)	25049.1	7613.1	4098.1	3795.7
Rendimiento (ton/ha)	18.5	12.0	7.4	4.4

Cuadro 6.4. Relación beneficio costo con la tecnología tradicional.

Estrato	1	2	3	4
Costo Producción (\$)	25049.0	7613.0	4098.0	3796.0
Rendimiento (ton/ha)	18.5	12.0	7.4	4.4
Precio/ton (\$)	6000.0	2000.0	2000.0	2000.0
Valor producción (\$/ha)	111000.0	24000.0	14800.0	8800.0
Ganancia neta (\$)	85951.0	16387.0	10702.0	5004.0
Relación B/C	4.4	3.1	3.6	2.3

Cuadro 6.5. Costo de las tecnologías generadas para amarre y crecimiento de fruto.

Tecnología	Número de aplicaciones y costo (\$)					Jornales (\$)	Costo Total (%)
	0 ^z	15	30	45	60		
TDZ+AG ₃		1090	1090	1090	1090	1200	5560
TDZ (1) y AG ₃ (4X)	341	922	922	922	922	1500	5530
TDZ (1) y AG ₃ (3X)	341	922	922	922		1200	4308

^z Días después de floración

Cuadro 6.6. Costo de la tecnología generada para floración irregular.

Tecnología (mg·L ⁻¹)	Costo·ha ⁻¹ (\$)	Jornales Núm.	Jornales (\$)	Total
P-Ca 1500	3180.00	2	400.00	3580.00
PBZ 2500	2730.00	1	200.00	2930.00

Cuadro 6.7. Costo de cultivo con tecnologías generadas.

Estrato	1	2	3	4
Poda	1293.9	1778.5	1421.9	491.0
Maleza	1067.8	1345.1	550.0	490.0
Riego	8050.0	1666.7	406.3	1000.0
P y E	439.5	625.0	469.3	363.7
Fertilizante	2198.0	2198.0	1251.0	851.0
Cosecha	12000.0			600.0
Aplicación de reguladores de crecimiento*	7238.0	7238.0	7238.0	7238.0
Costo Producción (\$)	32287.1	14851.1	11336.1	10542.7
Rendimiento (ton/ha)	27.8	18.0	11.1	6.6

* Para floración (PBZ) y amarre de fruto

Cuadro 6.8. Relación B/C usando PBZ para modificar floración.

Estrato	1	2	3	4
Costo Producción (\$)	32287.0	14851.0	11336.0	10543.0
Rendimiento (ton/ha)	27.8	18.0	11.1	6.6
Precio/ton (\$)	6000.0	4000.0	4000.0	4000.0
Valor producción/ha	166800.0	72000.0	44400.0	26400.0
Ganancia neta (\$)	134513.0	57149.0	33064.0	15857.0
Relación B/C	5.2	4.8	3.9	2.5

Cuadro 6.9. Costo de cultivo con tecnología generada

Estrato	1	2	3	4
Poda	1293.9	1778.5	1421.9	491.0
Maleza	1067.8	1345.1	550.0	490.0
Riego	8050.0	1666.7	406.3	1000.0
Sanidad	439.5	625.0	469.3	363.7
Fertilizante	2198.0	2198.0	1251.0	851.0
Cosecha	12000.0			600.0
Aplicación de reguladores de crecimiento*	7888.0	7888.0	7888.0	7888.0
Costo Producción (\$)	32937.2	15501.3	11986.5	11683.7
Rendimiento (ton/ha)	28.7	18.6	11.5	6.8

* Para floración (P-Ca) y amarre de fruto

Cuadro 6.10. Relación B/C usando P-Ca para modificar floración.

Estrato	1	2	3	4
Costo Producción (\$)	32937.2	15501.3	11986.5	11683.7
Rendimiento (ton/ha)	28.7	18.6	11.5	6.8
Precio/ton (\$)	6000.0	4000.0	4000.0	4000.0
Valor producción/ha (\$)	172200.0	74400.0	46000.0	27200.0
Ganancia neta (\$)	139262.8	58898.7	34013.5	15516.0
Relación B/C	5.2	4.8	3.8	2.3

CONCLUSIONES GENERALES

La iniciación floral en yemas de mango 'Ataulfo' ocurre con temperaturas entre 27 y 30/15 y 17°C (día/noche) y en brotes con dos a cuatro meses de edad.

Inhibidores de GAs bajo ambiente cálido, no promueven iniciación-diferenciación floral en el año de la aplicación. Pero si ocurre en el mismo año bajo ambiente fresco.

Con PBZ se logra mayor porcentaje de yemas diferenciadas que dan lugar a una mayor cantidad de inflorescencias en época más temprana, lo que conduce a una floración adelantada.

Luz, temperatura <20°C y la aplicación de inhibidores de la síntesis de giberelinas favorecen la expresión del gen *MiFT*, encargado de la inducción floral en mango 'Ataulfo'. Mientras que giberelinas inhibe la expresión de *MiFT* y por ende brotación floral.

P-Ca se muestra como un posible sustituto de PBZ para reducir crecimiento vegetativo, incrementar y adelantar floración, y producción de fruto. Aunque se requieren mayores dosis de P-Ca en mango por ser una especie tropical, que las reportadas en templados, para lograr el efecto deseado.

Se generaron tres tecnologías que incrementan el tamaño de los frutos partenocárpicos y el rendimiento y reducen el porcentaje de frutos partenocárpicos a) Cuatro aplicaciones de TDZ+AG₃ en Etapa II (15+30+45+60 DDF), b) TDZ en Etapa I más tres aplicaciones de AG₃ en Etapa II (15+30+45 DDF) y c) con TDZ en Etapa I más cuatro aplicaciones de AG₃ en Etapa II (15+30+45+60 DDF)

Aparentemente TDZ es suficiente para amarre y combinado con AG₃ son necesarios para iniciar el crecimiento y desarrollo de fruto.

El incremento logrado en el tamaño de frutos partenocárpicos por la aplicación de TDZ y AG₃, estuvo asociado a una mayor división y elongación celular.

Las tecnologías generadas, ocasionan un aumento en los costos de cultivo. No obstante, también incrementan el rendimiento y la relación beneficio/costo, a excepción con el uso de P-Ca en aquellos productores con una superficie menor a 5 ha.

LITERATURA CITADA

- Abdel Rahim, A.O.S., O.M. Elamin, and F.K. and Bangerth. 2011. Effects of growth retardants, paclobutrazol (PBZ) and prohexadione-Ca on floral induction of regular bearing mango (*Mangifera indica* L.) cultivars during off season. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science 6: 1990-6145.
- Abe, M., Y. Kobayashi, S. Yamamoto, Y. Daimon, A. Yamaguchi, Y. Ikedo, H. Ichinoko, M. Notaguchi, K. Goto, and T. Araki. 2005. FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. Science 309: 1052–1056.
- Abourayya, M.S., N.E. Kassim, M.H. El-Sheikh and A.M. Rakha. 2011. Comparative Study between Inflorescences Characteristics, Pollen Viability, Germination and Dimensions of Tommy Atkins, Kent and Keitt Mango Cultivars. Life Science Journal 81: 100–105.
- Agusti, M., A. Martinez-Fuentes and C. Mesejo. 2002. Citrus fruit quality. Physiological basis and techniques of improvement. Agrocencia 2: 1-16.
- Anónimo, 2007. 260/280 and 260/230 Ratios NanoDrop® ND-1000 and ND-8000 8-Sample. Spectrophotometers. NanoDrop and design are registered trademarks of NanoDrop. Technical Support Bulletin T009. Technologies Wilmington, Delaware USA ©2007 NanoDrop Technologies, Inc. www.nanodrop.com.
- AOAC. 1984. Official Methods of Analysis. 14th Ed. Published for the Association of Official Analytical Chemist Inc. Arlington, VA., USA. 1006 p.
- Arzani, K., F. Bahadori, and S. Piri. 2009. Paclobutrazol reduces vegetative growth and enhances flowering and fruiting of mature 'J.H. Hale' and 'Red Skin' peach trees. Horticulture, Environment. Biotechnology 50: 84-93.
- Asif, M., M. Usman, M. Jafar-Jaskani and M. Mumtaz-Khan. 2002. Comparative Study of Flower Sex Ratio in Different Cultivars of Mango (*Mangifera indica* L.). International Journal of Agriculture & Biology 4: 220–222.
- Asin, L. and P. Vilardell. 2007. Effect of Paclobutrazol and prohexadione-Calcium on shoot growth rate and growth control in 'Blanquilla' and 'Conference' pear. Acta Horticulturae 727: 133-138.

- Avigad, G. 1982. Sucrose and other disaccharides. - In Plant Carbohydrates. 1. Intracellular Carbohydrates (F. A. Loewus and W. Tanner, eds). Vol. 13A, pp. 216-234. Springer-Verlag, Berlin. ISBN 3-540-11007-0 Baker LR, Scott JW, Wilson JE (1973) Seedless pickles – a new concept. *Farm Science* 227: 1–12.
- Avitia, G. E. 1996. Anatomía precigótica y postcigótica en relación al aborto de óvulos y semillas en *Spondias purpurea* L. Tesis de Doctor en Ciencias. Programa de Botánica, Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Postgraduados. Montecillo Edo. de México. 118 p.
- Ayala-Garay, A. V., P. Rivas-Valencia, L. Cortes-Espinoza, M. de la O-Olán, D. Escobedo-López y E. Espitia-Rangel. 2014. La rentabilidad del cultivo de amaranto (*Amaranthus spp.*) en la región centro de México. *Ciencia ergo-sum* 21: 47-54.
- Bangerth, K. F. 2009. Floral induction in mature, perennial angiosperm fruit trees: Similarities and discrepancies with annual/biennial plants and the involvement of plant hormones. *Scientia Horticulturae* 122: 153–163.
- Bangerth, F. 2006. Flower induction in perennial fruit trees: still an enigma? *Acta Horticulturae* 727: 177–195.
- Bernardes-Silva, A.P.F., F.M. Lajolo, B.R. Cordenunsi. 2003. Evolução dos teores de amido e açúcares solúveis durante o desenvolvimento e amadurecimento de diferentes cultivares de manga. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas* 23: 116-120.
- Bernardes-Silva, A.P.F., J.R. Oliveira-Nascimento, F.M. Lajolo, and B.R. Cordenunsi. 2008. Starch mobilization and sucrose accumulation in the pulp of Keitt mangoes during postharvest ripening. *Journal of Food Biochemistry* 32: 384-395.
- Bernier, G., and C. Perilleux. 2005. A physiological overview of the genetics of flowering time control. *Plant Biotechnology Journal* 3: 3–16.
- Berova, M., and Z. Zlatev. 2000. Physiological response and yield of paclobutrazol treated tomato plants. *Plant Growth Regulation* 30: 117-123.
- Bertin, N., C. Borel, B. Brunel, C. Cheniclet, and M. Causse. 2003. Do genetic make-up and growth manipulation affect tomato fruit size by cell number, or cell size and DNA endoreduplication? *Annals of Botany (London)* 92: 415–424.

- Bertin, N., M. Causse, B. Brunel, D. Tricon, and M. Genard. 2009. Identification of growth processes involved in QTLs for tomato fruit size and composition. *Journal of Experimental Botany* 60: 237–248.
- Bidogeza, J., P. Berentsen, J. de Graaff, and OudeLansink. 2009. A typology of farm households for the Umutura Province in Rwanda. *Review. Food Sec.* In: Springer 1: 321-335.
- Blaikie, S.J., and V. Kulkarni. 2002. Manipulating flowering in mango, cv. Kensington Pride. *Acta Horticulturae* 575: 791–796.
- Blázquez, M.A. 2005. The Right Time and Place for Making Flowers. *Plant Science* 309: 1024-1025.
- Blázquez, M.A., C. Ferraándiz, F. Maduen and F. Parcy. 2006. How floral meristems are built. *Plant Molecular Biology* 60: 855–870.
- Bohner, J., and F. Bangerth. 1988. Effects of fruit-set sequence and defoliation on cell number, cell-size and hormone levels of tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* Mill) within a truss. *Plant Growth Regulator* 7: 141–155.
- Boss, P.K., R.M. Bastow, J.S. Mylne, C. Dean. 2004. Multiple pathways in the decision to flower: enabling, promoting, and resetting. *The Plant Cell* 16: S18–S31.
- Brunner, A.M., and O. Nilsson. 2004. Revisiting tree maturation and floral initiation in the poplar functional genomics era. *New Phytologist* 164: 43–51.
- Bunger-Kibler S, and F. Bangerth. 1982. Relationship between cell number, cell size and fruit size of seeded fruits of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), and those induced parthenocarpically by the application of plant growth regulators. *Plant Growth Regulation* 1: 143–154.
- Callejas, R., and F. Bangerth. 1997. Is auxin export of apple fruit an alternative signal for inhibition of flower bud induction? *Acta Horticulturae* 463: 271–277.
- Cárdena, K., and E. Rojas. 2003. Efecto del paclobutrazol y nitratos de potasio y calcio sobre el desarrollo del mango 'Tommy Atkins'. *BioAgro* 15: 83-90.
- Carmona, M.J., M. Calonje, and J. M. Martínez-Zapater. 2007. The FT/TFL1 gene family in grapevine. *Plant Molecular Biology* 63: 637–650.

- Cano-Medrano, R., and R.L. Darnell. 1997a. Sucrose metabolism and fruit growth in parthenocarpic vs seeded blueberry (*Vaccinium ashei*) fruits. *Physiologia Plantarum* 99: 439-446.
- Cano-Medrano, R., and R.L. Darnell. 1997b. Cell number and cell size in parthenocarpic vs pollinated blueberry (*Vaccinium ashei*) fruit. *Annals of Botany* 80: 419-425.
- Carrillo-Ángeles, R.Y., A.A. Gómez-Gómez, y R. Núñez-Tovar. 2010. Análisis comparativo de la producción de litchi (*Litchi chinensis* Sonn) en la sierra norte de Puebla, México. *Tesistecatl, Revista Electrónica de Ciencias Sociales*. ISSN 1886-8452. 3: 1-18.
- Carvalho, L.G., C.L. Seymour, S.W. Nicolson and R. Veldtman. 2012. Creating patches of native flowers facilitates crop pollination in large agricultural fields: mango as a case study. *Journal of Applied Ecology* 49: 1373–1383.
- Castrillo, M., N.J. Kruger, and F.R. Whatley. 1992. Sucrose metabolism in mango fruit during ripening. *Plant Science* 841: 45-51.
- Chen, W.S. 1987. Endogenous growth substances in relation to shoot growth and flower bud development of mango. *Journal American Society for Horticultural Science* 112: 360–363.
- Cheng, G.W., and P.J. Breen. 1992. Cell count and size in relation to fruit size among strawberry cultivars. *Journal American Society for Horticultural Science* 117: 946–950
- Chen, K.Y., Coleman, G., 2006. Type II MADS-box genes associated with poplar apical bud development and dormancy. *Annual Meeting American Society of Plant Biologists Abstr.* pp. 118.
- Chutichudet, B., P. Chutichudet, T. Chanaboon. 2006. Effect of gibberellins (GA₃) on fruit yield and quality of Kaew mango (*Mangifera indica* L.) cv. Srisaket 007 in Northeast Thailand. *Pakistan Journal of Biological Science* 9: 1542-1546.
- Cline, J.A., C.G. Embree, J. Hebb, and D.S. Nichols. 2008. Performance of prohexadione-calcium on shoot growth and fruit quality of apple - Effect of spray surfactants. *Canadian Journal Plant Science* 88: 165-174.
- Corbesier, L., C. Vincent, S. Jang, F. Fornara, Q. Fan, I. Searle, A. Giakountis, S. Farrona, L. Gissot, C.G.N. Turnbull, and G. Coupland. 2007. FT protein

- movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*. *Science* 316: 1030-1033.
- Costa, G., C. Andreotti, F. Spinelly, and W. Rademacher. 2006. Prohexadione-Ca: More than a growth regulator for pome fruit trees. *Acta Horticulturae* 727: 107-116.
- Dag, A., D. Eisenstein, and S. Gazit. 2000. Effect of temperature regime on pollen and the effective pollination of 'Kent' mango in Israel. *Scientia Horticulturae* 86: 1-11.
- Davenport, T. L. 2000. Processes Influencing Floral Initiation and Bloom: The Role of Phytohormones in a Conceptual Flowering Model. *HortTechnology* 10: 733-739.
- Davenport, T.L. 2003. Management of flowering in three tropical and subtropical fruit tree species. *HortScience* 38: 1331-1335.
- Davenport, T.L. 2007. Reproductive physiology of mango. *Brazilian Journal Plant Physiology* 19 :363-376.
- Davenport, T.L. and Z. Ying. 2004. Translocation of the mango florigenic promoter. *HortScience* 39: 887.
- Davenport, T.L., Y. Zhentu, V. Kulkarni, and T.L White. 2006. Evidence for a translocatable florigenic promoter in mango. *Scientia Horticulturae* 110: 150–159.
- Ding, P. and K. B. Darduri. 2013. Morphology of Chok Anan mango flower grown in Malaysia. *African Journal of Agricultural Research* 18: 1877-1880.
- Ditta, G., A. Pinyopich, P. Robles, S. Pelaz, and M. F. Yanofsky. 2004. The SEP4 Gene of *Arabidopsis thaliana* Functions in Floral Organ and Meristem Identity. *Current Biology* 14: 1935–1940.
- Do Carmo-Mouco, M.A.; E.O. Ono, e J.D. Rodriguez. 2011. Controle do crescimento vegetativo e floração de mangueiras cv. Kent com reguladores de crescimento vegetal. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal – SP* 33:1043-1047.
- Dorcey, E., C. Urbez, M.A. Blázquez, J. Carbonell, M.A. Pérez-Amador. 2009. Fertilization-dependent auxin response in ovules triggers fruit development through the modulation of gibberellin metabolism in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 58: 318–332.

- Einhorn, T.C., M.S. Pasa, and J. Turner. 2014. 'D'Anju' pears shoot growth and return Bloom, but not fruit size, are reduced by prohexadione-calcium. HortScience 49: 180-187.
- Endo, T., T. Shimada, H. Fujii, Y. Kobayashi, T. Araki, and M. Omura. 2005. Ectopic expression of an FT homolog from citrus confers an early flowering phenotype on trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.). Transgenic Research 14: 703–712.
- Eriksson, S., H. Bohlenius, T. Moritz, and O. Nilsson. 2006. GA₄ is the active gibberellin in the regulation of LEAFY transcription and Arabidopsis floral initiation. Plant Cell. 18: 2172–2181.
- Falcon, L.I. y A. Valera. 2007. Extracción de Ácidos Nucleicos. En. Ecología Molecular. Luis E. Eguiarte, Valeria Souza y Xitlali Aguirre. (Compiladores). Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 1ª. Edición, México DF. p. 499-516.
- Famiani, F., P. Proietti, M. Pilli, A. Battistelli, S. Moscatello. 2007. Effects of application of thidiazuron (TDZ), gibberellic acid (GA3), and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on fruit size and quality of *Actinidia deliciosa* 'Hayward'. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 35: 341-347.
- FIRA 2011. Aplicación de la tasa de rentabilidad financiera en proyectos agropecuarios. Boletín de Educación Financiera Núm. 9. Fideicomiso Instituido en Relación a la Agricultura (FIRA).
- Fischer, G., P. J. Almanza-Merchán and F. Ramírez. 2012. Source-sink relationships in fruit species: A review. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas 6: 238-253.
- Galán-Sauco, V. 1999. El Cultivo del Mango. Ediciones Mundi Prensa, Madrid. 298 p.
- Garner, L.C., Y. Zheng, T. Khuong and C.J. Lovatt. 2010. Prohexadione-Calcium affects shoot growth of evergreen subtropical woody perennials differently than deciduous temperate zone woody perennials - Is it a case of apples and oranges?. Acta Horticulturae 884: 249-256.
- Gehrke V., M.R. 2008. Reflexiones sobre problemas de biología reproductiva del mango Ataúlfo en el Soconusco, Chiapas. Tecnología en Marcha 21: 174-183.

- Gehrke-Vélez, M.R., A. Castillo-Vera, C. Ruiz-Bello y J.L. Moreno-Martínez. 2011. Viabilidad y germinación del polen en mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataulfo. *Interciencia* 36: 378-385.
- Giakountis, A., and G. Coupland. 2008. Phloem transport of flowering signals. *Curr. Opin. Plant Biology*. 11: 687–694.
- Gillaspy, G, H. Ben-David, and W. Gruissem. 1993. Fruits: A developmental perspective. *Plant Cell* 5: 1439-1451.
- Goldschmidt, E.E. 1999. Carbohydrate supply as a critical factor for citrus fruit development and productivity. *HortScience* 34: 1020-1024.
- Guzmán, E., J.M. Pat, R. Gómez, J. Pohlan, and J.C. Álvarez. 2009. Evaluación Financiera de la Producción de Papaya en Tabasco, México, por Tecnologías Baja, Media y Alta. *Revista de la Ingeniería Industrial* 3: 1-23.
- Hansen, P. 1982. Assimilation and carbohydrate utilization in apple. *Proceedings 21st International Horticultural Congress* 1: 257-268.
- Hattasch, C., H. Flachowsky, D. Kapturska and M. Hanke. 2008. Isolation of flowering genes and seasonal changes in their transcript levels related to flower induction and initiation in apple (*Malus domestica*). *Tree Physiology* 28: 1459–1466.
- Hedden, P., and J.E. Graebe. 1985. Inhibition of giberellin biosynthesis by paclobutrazol in cell-free homogenates of *Cucurbita maxima* endosperm and *Malus pumila* embryos. *Journal Plant Growth Regulation* 4: 111–122.
- Hedhly, A. 2011. Sensitivity of flowering plant gametophytes to temperature fluctuations. *Environmental and Experimental Botany* 74: 9–16.
- Hernández-Martínez, J., R. García-Mata, R. Valdivia-Alcalá y J.M. Omaña-Silvestre. 2004. Evolución de la competitividad y rentabilidad del cultivo del tomate rojo (*Lycopersicon esculentum* L.) en Sinaloa, México. *Agrociencia* 38: 431-436.
- Honma, T., and K. Goto, 2001. Complexes of MADS-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs. *Nature* 409: 525–529.
- Hubbard, N.L., D.M., Pharr, and S.C. Huber. 1991. Sucrose phosphate synthase and other sucrose metabolizing enzymes in fruits of various species. *Physiologia Plantarum* 82: 191-196.

- Huitrón, M.V., M. Díaz, F. Diánez, F. Camacho, and A. Valverde. 2007. Effect of 2,4-D and CPPU on triploid watermelon production and quality. *HortScience* 42: 559–564.
- Jackson, I.E., and I.W. Palmer. 1977. Effects of shade on the growth of apple trees. II. Effects on components on yield. *Journal Horticultural Science*. 52: 253–266.
- Johnson, L.K., A. Malladi, and S. NeSmith. 2011. Differences in cell number facilitate fruit size variation in rabbiteye blueberry genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 136: 10–15.
- Jun-hu, H., M. Feng-wang, and Ch. Ye-yuan. 2013. Fruit development and endogenous hormone concentrations in mango fruit with aborted and non-aborted embryos. *Acta Horticulturae* 992: 139-147.
- Khalid, S., A.U. Mañik, A.S. Khan, and A. Jamil. 2012. Influence of exogenous applications of plant growth regulators on fruit quality of young 'Kinnow' mandarin (*Citrus nobilis* × *C. deliciosa*) trees. *International Journal of Agriculture and Biology* 14: 229-234.
- Khan, S.A. and A. Perveen. 2009. Pollen germination capacity of three mango cultivars (*Mangifera indica* L., Anacardiaceae) from Pakistan. *Pakistan Journal of Botany* 41: 1009-1012.
- Kiessling-Davison, C.M., J.E. Magaña-Magaña, A. Segovia-Lerma, A.J. Obando-Rodríguez, and V.H. Villareal-Ramírez. 2008. Prohexadiona de calcio como regulador de crecimiento en el manzano (*Malus domestica* Borkh.) “Golden Delicious”, Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua, México. *TecnoCiencia Chihuahua* 1: 7-12.
- Kinet, J.M. 1993. Environmental, chemical, and genetic control of flowering. *Horticultural Reviews* 15: 279–334.
- Köbrich, C., T. Rehman, and M. Khan. 2003. Typification of farming systems for constructing representative farm models: two illustrations of the application of multi-variate analyses in Chile and Pakistan. In: *Agricultural Systems* 76: 141–157.
- Koch, K. 2004. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Plant Biology* 7: 235–246.

- Kotoda, N., M. Wada, S. Komori, S. Kidou, K. Abe, T. Masuda, and J. Soejima. 2000. Expression Pattern of Homologues of Floral Meristem Identity Genes LFY and AP1 during Flower Development in Apple. *Journal American Society for Horticultural Science*. 125: 398–403.
- Kotoda, N, H. Hayashi, M. Suzuki, M. Igarashi, Y. Hatsuyama, S. Kidou, T. Igasaki, M. Nishiguchi, K. Yano, T. Shimizu, S. Takahashi, H. Iwanami, S. Moriya and K. Abe. 2010. Molecular Characterization of FLOWERING LOCUS T –Like Genes of Apple (*Malus domestica* Borkh.). *Plant Cell Physiology* 51: 561–575.
- Krizek, B.A. and E.M. Meyerowitz. 1996. The *Arabidopsis* homeotic genes APETALA3 and PISTILLATA are sufficient to provide the B class organ identity function. *Development* 122: 11-22.
- Kulkarni, V.J. 1991. Physiology of flowering in mango studied by grafting. *Acta Horticulturae* 291: 95–104.
- Li, B., Z. Xie, A. Zhang, W. Xu, C. Zhang, Q. Liu, C. Liu, and S. Wang. 2010. Tree growth characteristics and flower bud differentiation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) under different climate conditions in China. *Horticultural Science* 37: 6–13.
- Liu, CH., W. Xi, L. Shen, C. Tan, and H. Yu. 2009. Regulation of Floral Patterning by Flowering Time Genes. *Developmental Cell* 16: 711–722.
- López-Roldán, P. 1996. La construcción de topologías: metodología de análisis Universidad Autónoma de Barcelona. Departamento de Sociología. Bellaterra (Barcelona), España.
- Luna-Méndez, N., J.L. Jaramillo-Villanueva, J. Ramírez-Juárez, S. Escobedo-Garrido, Á. Bustamante-González, y G. Campos-Ríos. 2013. Topología de unidades de producción de nuez de castilla en sistemas de producción tradicional. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo* 10: 283-303.
- Mandemaker, A.J.; Cutting, J.G.M.; Smith, D.B. and Dixon. J. 2005. Effect of prohexadione-ca on shoot growth, fruit set and retention in 'Hass' avocado in New Zealand. *New Zealand Avocado Grower's Association Annual Research Report* 5: 35-42.

- Martinez-Fuentes, M. C. Mesejo, N. Muñoz-Fambuena, C. Reig, M.C. Gonzalez-Mas, D.J. Iglesias, E. Primo-Millo, and M. Agusti. 2013. Fruit load restricts the flowering promotion effect of paclobutrazol in alternate bearing *Citrus spp.* *Scientia Horticulturae* 151: 122–127.
- Mateus, C.D., X. Pulido C., A. Gutiérrez, J. O. and Orduz-Rodríguez. 2010. Evaluación económica de la producción de cítricos cultivados en el Piedemonte del Departamento del Meta durante 12 años. *Revista Orinoquia* 14: 16-26.
- Matsuo, S., K. Kikuchi, M. Fukuda, I. Honda, S. Imanishi. 2012. Roles and regulation of cytokinins in tomato fruit development. *Journal of Experimental Botany* 63: 695–709.
- McCollum, T.G., D.J. Huber, and D.J. Cantliffe. 1988. Soluble sugar accumulation and activity of related enzymes during muskmelon fruit development. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 113: 399–403.
- McElwee, G., and G. Bosworth. 2010. Exploring the strategic skills of farmers across a typology of farm diversification approaches. *Journal of Farm Management* 13: 819-838.
- Medeiros de Siqueira, K. M., L.H. Pieda de Kiill, C. Feitosa-Martins, I. Borges Lemos, S. Pitombeira-Monteiro, and E. de Araújo Feitoza. 2008. Estudo comparativo da polinização de *Mangifera indica* L. em cultivo convencional e orgânico na região do Vale do Submédio do São Francisco. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30: 303-310.
- Medina-Urrutia, V.M. 1995. Effect of paclobutrazol and severe pruning on mango trees cv Tommy Atkins at high densities. *Proceeding of the Florida State Horticultural Society* 108: 364-368.
- Monteiro da Cruz, M.C., D. Lopes de Siqueira, L.C. Chamhum, and P.R. Cecon. 2008. Influencia do paclobutrazol e da temperatura ambiente sobre o florescimento e frutificac, ao da limeira a ́cidaTahiti. *Ciência e Agrotecnologia*. 32: 1148–1153.
- Mouco, M.A., E.O. Ono and J.D. Rodrigues. 2010. Mango Flower Induction in the Brazilian Northeast Semi-Arid with Gibberellin Synthesis Inhibitors. *Acta Horticulturae* 884: 591-596.

- Mukherjee, S. 2009. Introduction: Botany and Importance. *In*: Litz R. (Ed). The Mango Botany, Production and Uses. CAB International. New York, USA. P 1-22.
- Muñoz-Fambuena, N., C. Mesejo, M.C. González-Mas, D.J. Iglesias, E. Primo-Millo, and M. Agustí. 2012. Gibberellic Acid Reduces Flowering Intensity in Sweet Orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] by repressing CiFT Gene Expression. *Journal Plant Growth Regulators* 3: 529–536.
- Nakagawa, M., C. Honsho, S. Kanzaki, K. Shimizu, and N. Utsunomiya. 2012. Isolation and expression analysis of FLOWERING LOCUS T-like and gibberellin metabolism genes in biennial-bearing mango trees. *Scientia Horticulturae* 139: 108–117.
- Nakano, R., S. Inoue, Y. Kubo, and A. Inaba. 2002. Water stress-induced ethylene in the calyx triggers autocatalytic ethylene production and fruit softening in 'Tonewase' persimmon grown in a heated plastic-house. *Postharvest Biology and Technology* 25: 293–300.
- NeSmith, D. 2002. Response of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei* Reade) to the growth regulators CPPU and gibberellic acid. *HortScience* 37: 666–668.
- Nishikawa, F., T. Endo, T. Shimada, H. Fuji, T. Shimizu, M. Omura, and Y. Ikoma. 2007. Increased CiFT abundance in the stem correlates with floral induction by low temperature in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). *Journal of Experimental Botany* 58: 3915–3927.
- Núñez-Elisea, R., and T. L. Davenport. 1994. Flowering of mango trees in containers as influenced by seasonal temperature and water stress. *Scientia Horticulturae* 58: 57-66.
- Nuñez-Elisea, R., and T.L. Davenport. 1995. Effect of leaf age, duration of cool temperature treatment, of photoperiod on bud dormancy release and floral initiation in mango. *Scientia Horticulturae* 62: 63-73.
- Nunez-Elisea, R., and T.L. Davenport. 1998. Gibberellin and temperatura effects on dormancy release and shoot morphogenesis of mango (*Mangifera indica* L.). *Scientia Horticulturae* 77: 11–21.
- Ogata, T., H. Tamura, K. Hamada, and K. Hasegawa. 2010. Effect of gibberelin on setting and growth of non-pollinated parthenocarpic fruit in mango. *Acta Horticulturae* 884: 597-604.

- Olmstead, J.W., A.F. Lezzoni, and M.D. Whiting. 2007. Genotypic differences in sweet cherry fruit size are primarily a function of cell number. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 132: 697–703.
- Orona, I., J. Espinoza, G. González, B. Murillo, J. García, y J. Santamaría. 2006. Aspectos técnicos y socioeconómicos de la producción de nuez (*Carya illinoensis* Koch.) en la Comarca Lagunera, México. *In: Agricultura Técnica en México* 32: 295-301.
- Osuna-Enciso, T., E.M. Engleman, A.E. Becerril R., R. Mosqueda V., M. Soto H., y A. Castillo M. 2000. Iniciación y diferenciación floral en mango 'Manila'. *Agrociencia* 34: 573-581.
- Ozga J.A., and D.M. Reinecke. 2003. Hormonal interactions in fruit development. *Journal of Plant Growth Regulation* 22: 73–81.
- Palanichamy V., N.N. Reddy, S. Babu, E. Selvaraj, Aranganathan and B. Mitra. 2012. Determination of time period of fruit bud differentiation and the associated histological and biochemical changes in mango Hybrids. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences RJPBCS* 3: 271-290.
- Pandey, R. M. 1989. Physiology of flowering in mango. *Acta Horticulturae* 231: 361–380.
- Pandolfini, T. 2009. Seedless fruit production by hormonal regulation of fruit set. *Nutrients* 1: 168-177.
- Pelaz, S., G.S. Ditta, E. Baumann, E. Wisman and M.F. Yanofsky. 2000. B and C floral organ identity functions require SEPALLATA MADS-box genes. *Nature* 405: 200-203 .
- Peña, J.E. 2003. Insectos polinizadores de frutales tropicales: no solo las abejas llevan la miel al panal. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)* 69: 6-20.
- Peña, L., M. Martin-Trillo, J. Juarez, J.A. Piña, L. Navarro, and J.M. Martinez-Zapater. 2001. Constitutive expression of *Arabidopsis* *LEAFY* or *APETALA1* genes in citrus reduces their generation time. *Nature Biotechnology* 19: 263–267.
- Perdomo-Moreno, A. 2001. Métodos y modelos básicos de planeación financiera. Editorial PEMA, México.

- Pérez B., M. H. y V. Vázquez V. 2006. Defoliación de brotes apicales y su efecto en la diferenciación floral del mango Tommy Atkins. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29: 197-202.
- Pérez B., M.H., V. Vázquez V., y J.A. Osuna G. 2008. Uso de giberelinas para modificar crecimiento vegetativo y floración en mango Tommy Atkins y Ataulfo. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14: 169-175.
- Pérez B., M.H. V. Vázquez V., and J.A Osuna G. 2009. Floral bud development of 'Tommy Atkis' mango under tropical condition in Nayarit, Mexico. *Acta Horticulturae* 820: 204.
- Pérez-Barraza, M.H., V. Vázquez-Valdivia, J.A. Osuna-García, and M.A. Urías-López. 2009. Incremento del amarre y tamaño de frutos partenocárpicos en mango 'Ataulfo' con reguladores del crecimiento. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15: 183-188.
- Pérez-Barraza M.H.; J.A. Osuna-García; R. Sánchez-Lucio y V. Vázquez-Valdivia. 2011. El paclobutrazol como promotor de la floración en mango 'Manila', aun sin condiciones ambientales inductivas. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17(Especial 1): 47-52.
- Pérez, F., and M. Gómez. 2000. Possible role of soluble invertase in the gibberellic acid berry-sizing effect in Sultana grape. *Plant Growth Regulation* 30: 111–116.
- Peroni, F.H.G., C. Koike, R.P. Louro, E. Purgatto, J.R.O. do Nascimento, F.M. Lajolo, B.R. Cordenunsi. 2008. Mango starch degradation. II. The binding of α -amylase and β -amylase to the starch granule. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 7416-7421.
- Pillitteri, L.J., C.J. Lovatt, and L.L. Walling. 2004. Isolation and characterization of a TERMINAL FLOWER homolog and its correlation with juvenility in citrus. *Plant Physiology* 135: 1540–1551.
- Pongsomboon, W., S. Subhadrabandhu, R.A. Stephenson. 1997. Some aspects of the ecophysiology of flowering intensity of mango (*Mangifera indica* L.) cv. Nam Dok Mai in a semi-tropical monsoon Asian climate. *Scientia Horticulturae* 70: 45–56.

- Rademacher, W. 2000. Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molecular Biology* 51: 501–31.
- Rademacher, W., J.B. Speakman, R.R. Evans, J.R. Evans, S. Roemmelt, S. Michalek, A. Lux-Endrich, D. Treutter, T. Iturriagagoitia-Bueno, and P. John. 1998. Prohexadione-Ca: A new plant growth regulator for apple with interesting biochemical features. *HortScience* 33: 540.
- Rademacher, W., F. Spinelli, and G. Costa. 2006. Prohexadione-Ca: Modes of action of a multifunctional plant bioregulator for fruit trees. *Acta Horticulturae* 727: 97-106.
- Rademacher, W. 2014. Prohexadione-Ca and trinexapac-ethyl: Similarities in structure but differences in biological action. *Acta Horticulturae*. 1042: 33-42.
- Ram, S. 1992. Naturally occurring hormones of mango and their role in growth and drop of the fruit. *Acta Horticulturae* 321: 400-411.
- Ramírez, H.; S. Alonso and A. Benavides. 2006. Prohexadione-Ca modifies growth and endogenous hormones in the shoot apex in apple trees. *Acta Horticulturae* 727: 117-124.
- Ramírez, H., J.C. Sánchez-Canseco, L.J. Ramírez-Pérez, and A. Benavides. 2014. Significance of hormones on flower bud initiation and fruit quality in apple: Our Expertise. *Acta Horticulturae* 1042: 73-78.
- Ramirez, F., and T.L. Davenport. 2010. Mango (*Mangifera indica* L.) flowering physiology. *Scientia Horticultural* 126: 65–72.
- Ramírez, F., T.L. Davenport and G. Fischer. 2010. The number of leaves required for floral induction and translocation of the florigenic promoter in mango (*Mangifera indica* L.) in a tropical climate. *Scientia Horticulturae* 123: 443–453.
- Rani, V., M.W. Ansari, A. Shukla, N. Tuteja and G. Bains. 2013. Fused lobed anther and hooked stigma affect pollination, fertilization and fruit set in mango. *Plant Signaling & Behavior* 8: 23167.
- Rapoport, H.F., T. Manrique, and R. Gucci. 2004. Cell division and expansion in the olive fruit. *Acta Horticulturae* 636: 461–465.

- Ravishankar, H., M.M. Rao and K.M. Bojappa. 1979. Fruit bud differentiation in mango 'Alphonso' and 'Totapuri' under mild tropical rainy conditions. *Scientia Horticulturae*, 10: 95—99.
- Rebolledo M., A., A.L. Del Angel P. y J. REY M. 2008. Effect of paclobutrazol and KNO₃ over flowering and fruit quality in two cultivars of mango Manila. *Interciencia* 33: 518-522.
- Reece, P.C., J.R. Furr, and W.C. Cooper. 1949. Further studies of floral induction in the Haden mango (*Mangifera indica* L.). *American Journal of Botany* 36: 734-740.
- Rodriguez, K., M. Aranguren, and E. Farrés. 2007. Efecto del paclobutrazol en el desarrollo vegetativo e inicio de la floración en dos cultivares de mango (*Mangifera indica* L.). *Memorias del II Simposio Internacional de Fruticultura Tropical y Subtropical*. La Habana, Cuba. s/p.
- Ruiz-García, L., F. Madueño, M. Wilkinson, G. Haughn, J. Salinas, and J. M. Martínez-Zapatera. 1997. Different roles of flowering-time genes in the activation of floral initiation Genes in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 9: 1921-1934.
- SAGARPA, 2013. Superficie de mango, volumen de producción y rendimiento promedio por municipio y variedad. Subdelegación Agropecuaria. Programa de Fomento Agrícola y Programa de Sanidad Vegetal. Delegación Estatal en Nayarit. 10 p.
- Samani, E.B. 2014. Effects of paclobutrazol on vegetative and reproductive characteristics of peach (*Prunus persica* L.) cv. 'Kardi'. *Agricultural Communications*. 2:37-42.
- Santos-Chávez, V.M. 2003. Tipificación de productores agropecuarios como base para el diseño de políticas de desarrollo rural territorial: estudio de caso en la región Texcoco del Estado de México. Tesis de Maestría en Ciencias, Especialista en Desarrollo Rural. Colegio de Postgraduados.
- Sasaki, K., and N. Utsunomiya. 2002. Effect of combined application of CPPU and GA₃ on the growth of 'Irwin' mango fruits. *Japanese Journal of Tropical Agriculture* 46: 224-229.

- Scorza, R., L.G. May, B. Purnell, and B. Upchurch. 1991. Differences in number and area of mesocarp cells between small- and large fruited peach cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116: 861–864.
- Scholefield, P.B., D.R. Oag, and M. Sedgley. 1986. The relationship between vegetative and reproductive development in the mango in Northern Australia. *Australian Journal Agricultural Research* 37: 425-433.
- Serrani, J.C., M. Fos, A. Atares, and J.L.García-Martínez. 2007. Effect of gibberellin and auxin on parthenocarpic fruit growth induction in the cv. micro-tom of tomato. *Journal of Plant Growth Regulation* 26: 211–221.
- Serrani, J.C. O. Ruiz-Rivero, M. Fos, and J.L.García-Martínez. 2008. Auxin-induced fruit-set in tomato is mediated in part by gibberellins. *The Plant Journal* 56: 922–934.
- Shu, Z.H., and T.F. Sheen. 1987. Floral induction in axillary buds of mango (*Mangifera indica* L) as affected by temperature. *Scientia Horticulturae* 31: 81–87.
- SIACON-SAGARPA, 2013. Subsistema de Información Agrícola. Información de cultivos 1980-2013.
- Simao, R.A., A.P. Silva, F.H. Peroni, J.R. do Nascimento, R.P Louro, F.M. Lajolo, and B.R. Cordenunsi. 2008. Mango starch degradation. I. A microscopic view of the granule during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 56: 7410-7415.
- Singh, V.K., and A.K. Bhattacharjee. 2005. Genotypic response of mango yield to persistence of paclobutrazol in soil. *Scientia Horticulturae* 106: 53-59.
- Singh, Z., A.U. Malik and T.L. Davenport. 2005. Fruit drop in mango. *Horticultural Reviews* 31: 111-153.
- Sing, Z. 2009. Gibberellin type and time of application influence fruit set and retention in mango. *Acta Horticulturae* 820: 407-412.
- Srivastava, A., and A.K. Handa. 2005. Hormonal regulation of tomato fruit development: a molecular perspective. *Journal Plant Growth Regulator* 24: 67-82.

- Stern, R., and M.A. Flaishman. 2003. Benzyladenine effects on fruit size, fruit thinning and return yield of 'Spadona' and 'Coscia' pear. *Scientia Horticulturae* 98: 499–504.
- Stern, R.A., M. Flaishman, S. Applebaum, and R. Ben-Arie. 2007. Effect of synthetic auxins on fruit development of 'Bing' cherry (*Prunus avium* L.). *Scientia Horticulturae* 114: 275–280.
- Sukhvibul, N., A.W. Whiley, M.K. Smith, S.E. Hetherington, and V. Vithanage. 1999. Effect of temperature on inflorescence and floral development in four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae* 82: 67-84.
- Sukhvibul, N., S.E. Hetherington, V. Vithanage, A.W. Whiley, and M.K. Smith. 2000. Effect of temperature on inflorescence development and floral biology of mango (*Mangifera indica* L.). *Acta Horticulturae* 509: 601-607.
- Sukhvibul, N., A.W. Whiley, and M.K. Smith. 2005. Effect of temperature on seed and fruit development in three mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae* 105: 467-474.
- Sung, I.H., M.Y. Lin, C.H. Chang, A.S. Cheng, W.S. Chen and K.K. Ho. 2006. Pollinators and their behaviors on mango flowers in Southern Taiwan. *Formosan Entomology* 26: 161-170.
- Tanksley, S.D. 2004. The genetic, developmental, and molecular bases of fruit size and shape variation in tomato. *Plant Cell* 16: S181–S189.
- Terrones C., A., and Y. Sánchez T. 2011. Análisis de la rentabilidad económica de la producción de jitomate bajo invernadero en Acaxochitlán, Hidalgo. *Quinta Época* 29:752-761.
- Tharanathan, R.N., M.H. Yashoda, T.N. Prabha. 2006. Mango (*Mangifera indica* L.), "The king of fruits": An overview. *Food Reviews International* 22: 95-123.
- Tongumpai, P., K. Jutamanee, S. Subhadrabandu. 1991. Effect of paclobutrazol on flowering of mango cv. Khiew Sawoey. *Acta Horticulturae* 291: 67-70.
- Tongumpai, P., S. Charnwichit, S. Subhadrabandhu, R. Ogata. 1996. Anatomical study of terminal bud development of mango treated with paclobutrazol. *Acta Horticulturae* 455: 175-179.

- Tromp, J., 1984. Flower bud formation in apple as affected by air and root temperature, air humidity, light intensity, and day length. *Acta Horticulturae* 149: 39-47.
- Upreti, K.K., Y.T.N. Reddyb, S.R. Shivu Prasadb, G.V. Bindua, H.L. Jayarama, and S. Rajan. 2013. Hormonal changes in response to paclobutrazol induced early flowering in mango cv. Totapuri. *Scientia Horticulturae* 150: 414–418.
- Urban, L., X. Le Roux, H. Sinoquet, S. Jaffuel, and M. Jannoyer. 2003. A biochemical model of photosynthesis for mango leaves: evidence for the effect of fruit on photosynthesis capacity of nearby leaves. *Tree Physiology* 23: 289-300.
- Urban, L., M. Léchaudel and P. Lu. 2004. Effect of fruit load and girdling on leaf photosynthesis in *Mangifera indica* L. *Journal of Experimental Botany* 55: 2075-2085.
- Varoquaux, F., R. Blanvillain, M. Delseny, and P. Gallois. 2000. Less is better: new approaches for seedless fruit production. *TIBTECH* 18: 233-242.
- Vasconcelos-Botelho, R., E.J. Paioli-Pires, M. Monteiro-Terra, and C.R. Limonta-Carvalho. 2003. Efeitos do thidizuron e do ácido giberélico nas características dos cachos e bagas de uvas 'Niagara Rosada' na região de Jundiá-SP1. *Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal-SP*. 25: 96-99.
- Vázquez V., V., y M.H. Pérez B. 2006. Dosis y épocas de aplicación de ácido giberélico en la floración y la cosecha del mango Ataulfo. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29: 197-202
- Vázquez V., V., M.H. Pérez B, J.A. Osuna G., y M.A. Urías L 2009a. Intensidad de poda sobre el vigor, producción y peso del fruto, del mango 'Ataulfo'. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15:127-132.
- Vázquez V., V., M.H. Pérez B. J.A. Osuna G., y M.A. Urías L. 2009b. Manejo integral de huertos de mango 'Ataulfo' con altas densidades de plantación. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 15:155-160.
- Wani, I.A., M.Y. Bhat, A.A. Lone, and M.Y. Mir. 2010. Unfruitfulness in fruit crops: Causes and remedies. *African Journal of Agricultural Research* 5: 3581-3589.

- Wei, C.B., H.X. Wu, W.H. Ma, S.B. Wang, G.M. Sun. 2013. Sucrose Metabolism and Changes of Relative Enzymes in *Mangifera indica* L. 'Irwin'. *Acta Horticulturae*. 992: 569-574.
- Wet, E., P.J. Robbertse and H.T. Groeneveld. 1989. The influence of temperature and boron on pollen germination in *Mangifera indica* L. *South African Journal of Plant and Soil* 6: 228-234.
- Whiley, A.W. 1993. Environmental effects on phenology and physiology of mango: A review. *Acta Horticulturae* 341: 168–176.
- Whiley, A.W., T.S. Rasmussen, J.B. Saranah, and B.N. Wolstenholme. 1989. Effect of temperature on growth, dry matter production and starch accumulation in ten mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Journal of Horticultural Science* 64: 753–765.
- Whiley, A.W., and B. Schaffer. 1997. Stress physiology. In: R. E. Litz (ed.), *The mango: Botany, production and uses*. CAB Int., Cambridge, UK.. P. 147-174.
- Wilfinger, W.W., K. Mackey, and P. Chomczynski, 1997. Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity: *BioTechniques* 22: 474-481.
- Wilkie, J.D., M. Sedgley and T. Olesen. 2008. Regulation of initiation in horticultural trees. *Journal of Experimental Botany* 59: 3215-3228.
- Winston, E.C. 1992. Evaluation of paclobutrazol on growth, flowering and yield of mango cv. Kensington Pride. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 32: 97–104.
- Yao, A., J. Wang, S. Zhang, Y. Yang, L. Zhou and J. Hu. 2012. The expression patterns of the genes VvTFL1, VFL, VAP1, VvAG1 and VvSEP3 during bud and flower development in the "Xiangfei" grapevine (*Vitis vinifera* L.). *African Journal of Agricultural Research* 7: 240-249.
- Yeshitela, T., P.J. Robbertse and P.J.C. Stassen. 2004. Effects of various inductive periods and chemicals on flowering and negative growth of 'Tommy Atkins' and 'Keitt' mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *New Zealand Journal of Horticultural Science* 31: 209-215.

- Yeshitela, T., P.J. Robbertse, and P.J.C. Stassen. 2005. Effects of pruning on flowering, yield and fruit quality in mango (*Mangifera indica*). *Australian Journal of Experimental Agriculture* 45: 1325-1330.
- Zhang, C., K. Tanabe, F. Tamura, A. Itai, and M. Yoshida. 2007. Roles of gibberellins in increasing sink demand in Japanese pear fruit during rapid fruit growth. *Plant Growth Regulator* 52: 161-172.
- Zhang, C., K. Tanabe, S. Wang, F. Tamura, A. Yoshida, and K. Matsumoto. 2006. The impact of cell division and cell enlargement on the evolution of fruit size in *Pyrus pyrifolia*. *Annals of Botany* 98: 537–543.
- Zhou, L., and R.E. Paull. 2001. Sucrose metabolism during papaya (*Carica papaya*) fruit growth and ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 126: 351-357.