ESTUDIO DEL EFECTO DEFOLIANTE DEL CEPA COMO INDUCTOR DE LA FLORACIÓN EN LIMA PERSA (CitrusIatifoliaTan)

Nadina Nieves, C. G. Borroto, María Blanco, A. Novo, E. Legítimo, J. González y Maritza Escalona

ABSTRACT. The present paper was performed with the aim to study the influence of CEPA (2-chloroethyl phosphonic acid) as flowering inductor, its defoliating action and the control of this on Persian lime. It envolves two experiments: the first, in order to measure the influence on flowering, with two treatments, six repetitions and doses of 500 mg.L^{-1}; the second assay consisted of the combination of CEPA at the same doses with three additives ($CaAc_2$, $CaCl_2$ and $CaCo_3$) in different concentrations -0.05 and 0.07 M- with seven treatments and four repetitions. These results showed the influence of CEPA on the flowering induction of this cultivar as well as the defoliating effect on trees; besides, when applying $CaCO_3$ at 0.05 M, foliar and fruit abscissions decreased.

Key words: *Citrus latifolia*, CEPA, growth stimulators, induced flowering

RESUMEN. Con el objetivo de estudiar el efecto defoliante del CEPA (ácido 2-cloroetil fosfónico) en su utilización como inductor de la floración en lima Persa, relacionado con los niveles endógenos de los inhibidores (ABA) y comprobar la adición de diferentes aditivos en la disminución de la defoliación, se realizó el presente trabajo que agrupa dos experimentos: el primero para medir el efecto del CEPA sobre la floración, con dos tratamientos, seis réplicas y las dosis de 500 mg.L^{-1}; el segundo experimento, un ensayo donde se combinó CEPA a igual dosis con tres aditivos ($CaAc_2$, $CaCl_2$ y $CaCo_3$), en concentraciones de 0.05 y 0.07 Molar, con siete tratamientos y cuatro repeticiones. Se pudo comprobar que el cepa aplicado en el período de la inducción floral en dosis de 500 mg.L^{-1}, es capaz de influir en la floración de este cultivar; a su vez se demostró la notable defoliación que causa este regulador del crecimiento cuando es aplicado al árbol. Se comprueba, además, que el $CaCO_3$ a la concentración de 0.05 Molar, disminuye la abscisión de hojas y frutos inducidos por el CEPA.

Palabras clave: *Citrus latifolia*, CEPA, estimulantes del crecimiento, floración inducida

INTRODUCCIÓN

Dentro de las limas grandes ácidas (*Citrus latifolia* Tanaka), es la lima Persa o de Tahití la más importante y conocida. Esta presenta problemas genéticos, referidos a su bajo porcentaje de cuaje por los problemas de fecundación asociados a su poliploidía y fisiológicos relacionados al daño del extremo estilar (Borroto *et al.* 1984 y Weaver, 1972).

La formación de yemas florales en los cítricos así como muchos árboles frutales, es antagonizada por las giberelinas (Monselise, 1964); los retardantes del crecimiento desordenan la biosíntesis de estas y son capaces de inducir la floración en los cítricos (Wylie, Ryugo y Sachis, 1970). En condiciones tropicales se han encontrado incrementos en la densidad de flores en naranjo Valencia y lima Persa con aplicaciones exógenas de CEPA como inductor de la floración (Borroto *et al.*, 1984; y González y Borroto, 1984). Ha sido señalado además que el CEPA incrementa los niveles de etileno endógeno en los tejidos (Schachler y Matschke, 1991).

El etileno produce la abscisión de hojas, frutos y flores en plantas intactas y además la floración producida por el 2,4-D, el NAA y las Morfactinas es el resultado de la inducción de etileno en las plantas por estos compuestos (Weaver, 1972).

La promoción de la senescencia por el ABA está especialmente enlazada con el mismo efecto del etileno (Milborrow, 1974) y aunque no se conocen con exactitud los mecanismos existentes en el sinergismo entre ambas hormonas, se sugiere que un aumento en la producción de etileno es una señal para desencadenar o acelerar los procesos de síntesis de ABA (Mayk y Halevy, 1972).

En trabajos realizados en Japón, el ácido 2-cloroetil fosfónico (Etephon) causó un 20 % de defoliación en árboles de "Ponkan" y 30 % de caída de frutos en "Kumquat", mientras que con la adición de 0.05 Molar de acetato de calcio la defoliación y caída de frutos fue prevenida completamente (Iwahori y Oobata, 1980).

Nadina Nieves, Investigador Agregado; Dr. C. G. Borroto, Investigador Titular; María Blanco, Dr. J. González y Maritza Escalona, Investigadores Auxiliares del laboratorio de Bioquímica, Centro de Bioplantas, Instituto Superior Agrícola, Carretera Morón km 9, Ciego de Avila, Cuba

El presente trabajo se realizó con el objetivo de estudiar el efecto defoliante del CEPA, en su utilización como inductor de la floración en la lima Persa, relacionado con los niveles endógenos de los inhibidores (ABA) y comprobar la adición de diferentes aditivos en la disminución de la defoliación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron en árboles de lima Persa (*Citrus latifolia* Tan) sobre patrón agrio (*Citrus aurantium* Lin) en un suelo Ferralítico Rojo en Ciego de Avila.

Experimento 1. Se realizó en árboles de doce años de edad. Las plantas fueron sometidas a dos tratamientos: CEPA (ácido 2-cloroetilfosfónico, formulado como Flordimex y a una concentración de producto activo de 400 g/L^{-1}), 500 mg.L^{-1} y control. Cada tratamiento constó de cuatro réplicas y cuatro plantas por parcela, para 64 plantas en total, distribuidas en bloques completamente aleatorizados.

El CEPA fue aplicado al follaje a razón de 10 L.planta^{-1} en la segunda quincena de diciembre. La defoliación fue evaluada a los diez días posteriores a la aplicación en ramas marcadas.

La evaluación del número de brotes y botones se realizó decenalmente, utilizando ramas marcadas de 30 cm de longitud, las que se seleccionaron en número de ocho por árbol, dos por cada punto cardinal.

Determinación de ácido abscísico (ABA). Para la determinación del ABA se colectaron 150 g de brotes vegetativos de cada tratamiento, para formar tres réplicas de 50 g, en dos momentos del experimento: antes de la aplicación y 30 días posterior a la misma, de los que se tomaron las yemas con un tercio de la parte basal de la hoja, las que fueron extraídas con metanol frío al 80 %. El concentrado acuoso fue congelado, filtrado y fraccionado a pH = 2.5 con éter y acetato de etilo, usando la metodología seguida por Dathe, Schneider y Sembdner (1978).

Los extractos etéreos fueron purificados por columnas cromatográficas de DEAE-Sephadex A-25 usando un gradiente discontinuo de ácido acético en metanol al 80 % (0.25, 0.5, 0.75 y 0.1 N en orden ascendente). El patrón fue sometido a las mismas condiciones.

Las fracciones se sometieron a bioensayos para su cuantificación, usando el método de imbibición del coleoptilo de arroz (*Oryza sativa*) variedad Cuba 65.

Experimento 2. Se realizó en árboles de diez años de edad. Los mismos fueron sometidos a siete tratamientos: CEPA 500 mg.L^{-1} solo y combinado con diferentes aditivos: acetato de calcio (0.05 M), cloruro de calcio y carbonato de calcio a concentraciones de 0.05 y 0.07 M, respectivamente, y plantas control que fueron asperjadas con agua solamente. Estos constaron de cuatro repeticiones para un total de 28 plantas en el ensayo.

Seis ramas de 30 cm de longitud, marcadas alrededor del árbol, fueron asperjadas hasta punto de goteo en el período de posfloración. Las evaluaciones de defoliación y abscisión de frutos se realizaron a los 10 días posteriores a la aplicación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto del CEPA sobre la defoliación en árboles de lima Persa se muestra en la Figura 1. La dosis de 500 mg.L^{-1} utilizada en la inducción floral, provocó una abundante defoliación, superior al 50 %, lo que muestra diferencias altamente significativas sobre las plantas control.

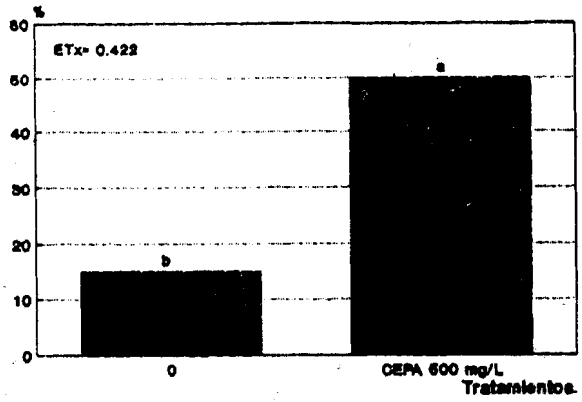


Figura 1. Efectos del CEPA sobre la abscisión foliar en lima Persa

En citricultura, el CEPA ha sido utilizado para reducir la fuerza de retención de órganos, provocando la abscisión de los mismos en técnicas tales como el aclareo y la cosecha mecanizada (Monselise y Halevy, 1964 y Poovaiah, 1980). En dosis de 500 y 1 000 mg.L^{-1}, la defoliación ha sido superior al 60 % cuando se ha aplicado en naranjo Valencia y lima Persa (Borroto *et al.*, 1984).

El incremento de la brotación que provoca el etileno en las plantas puede observarse en la Figura 2, en la que se aprecia el notable aumento en los árboles tratados con respecto al control, con diferencias estadísticas de significación.

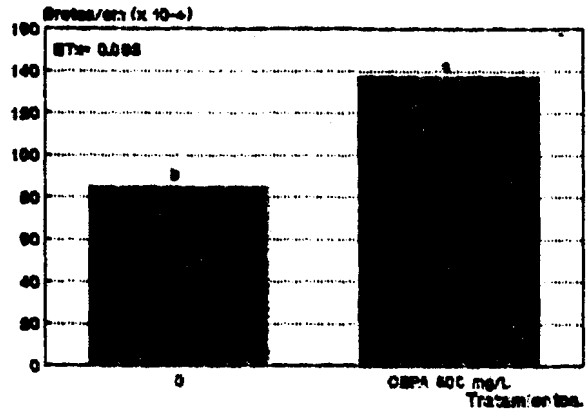


Figura 2. Efectos del CEPA sobre la brotación en lima Persa

La frecuencia y el número de brotaciones depende del control de la dominancia apical y puede ser afectada por la aplicación exterior de reguladores del crecimiento (Moss, 1975). La aspersión foliar de CEPA logró incrementos significativos en la nueva brotación de la lima Persa (Borroto *et al.*, 1984).

En la Figura 3 se expone el comportamiento de la floración, apreciándose que en las plantas que recibieron las aplicaciones de CEPA, la floración se ve incrementada ligeramente con respecto al control, sin diferencias significativas.

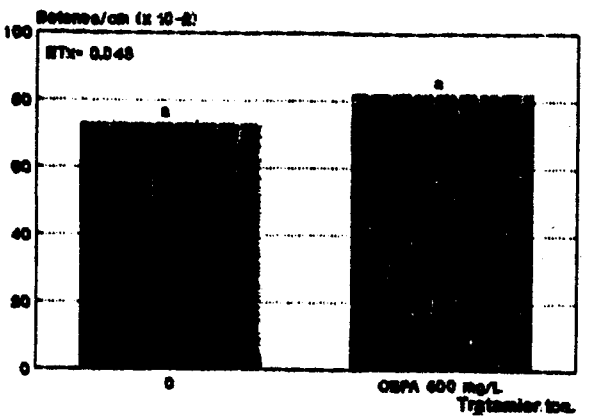


Figura 3. Efectos del CEPA sobre la floración en lima Persa

Se ha encontrado un incremento de los niveles de floración con el uso de productos liberadores de etileno en diferentes cultivares de cítricos (Bar-Akiva, 1975; Borroto *et al.*, 1984; y González y Borroto, 1984), frutales (Hoque *et al.*, 1983) y otras especies de plantas (Wylie, Ryugo y Sachis, 1970), en condiciones subtropicales y tropicales.

En la Figura 4 se muestran los resultados de la cromatografía sobre DEAE-Sephadex A-25. Como se puede observar las máximas fracciones inhibitorias corresponden al gradiente 0.5 N de ácido acético en metanol al 80 %. También se observa la aparición de otras fracciones inhibitorias (x,y) a otros gradientes de elución. La máxima fracción inhibitoria corresponde al ABA, según se corrobora por trabajos de Dathe y Sembdner (1980 y 1981) y Hoque *et al.* (1983) que determinaron, en estas mismas condiciones, por la polaridad del ABA que eluye en las fracciones 5-9, según el gradiente informado anteriormente. La aparición de las fracciones inhibitorias señaladas como x e y parecen corresponder a otros inhibidores (Meyer *et al.*, 1984).

Como se observa en la Figura 4, los niveles de inhibidores antes del período de la inducción son mínimos, mientras que en la posinducción floral se incrementan notablemente, siendo más marcada esta diferencia en las plantas tratadas.

La acción del CEPA como regulador del crecimiento, es debido a la estimulación de la producción de etileno dentro de los tejidos de la misma planta (Burg, 1988 y Yans, 1969). En estudios realizados sobre el control de la senescencia en pétalos de rosa aplicando Etephon, se encontró una estrecha relación entre el ABA y el etileno (Mayk y Halevy, 1972). De igual modo, Goldschmidt y Goren (1973) encontraron incrementos en los niveles de ABA en naranjos al ser tratados con Etephon.

En el trabajo se encontró un incremento en los niveles de ABA endógenos con la aplicación de un producto liberador de etileno (CEPA), lo que ha estado acompañado por el aumento en el número de flores en los árboles, pero a su vez por una abundante defoliación de los mismos.

Se presenta un balance favorable a los inhibidores del crecimiento (ABA) durante el período de la inducción floral, con el uso de retardantes del crecimiento (CEPA) en árboles de lima Persa y naranjo Valencia (Borroto *et al.*, 1986). Además, se ha estudiado el rol de este inhibidor en los procesos de abscición en árboles de lima Persa (Escalona *et al.*, 1986).

La aplicación de CEPA en combinación con acetato de calcio, carbonato de calcio y cloruro de calcio a una concentración de 0.05 M, redujo considerablemente la defoliación provocada por el CEPA (Figura 5), mientras que con dosis de 0.07 M de cloruro de calcio y carbonato de calcio no se obtuvo una respuesta similar, puesto que en el primer caso hubo una cierta tendencia al incremento y en el segundo la disminución fue muy leve. Resulta curioso cómo un incremento en las dosis del cloruro y el carbonato casi no tuvo efectos de control sobre la abscición foliar, lo que requeriría de posteriores estudios más profundos para llegar a conclusiones.

El comportamiento de la abscición de frutos se muestra en la Figura 6. Como se observa, las dosis de cloruro de calcio 0.07 M y carbonato de calcio 0.05 M son las más efectivas en la prevención de la caída de frutos por la acción del CEPA.

En la actualidad son usados muchos aditivos para atenuar el efecto de la abscisión de los inductores. El cloruro de calcio reduce el nivel de defoliación y además el aflojamiento de los frutos producidos por el Etephon y el CBA-15281 (Rasmussen, 1980). El calcio retarda la abscisión a través de su efecto sobre las sustancias cementantes de la pared celular (Poovaiah, 1980). Es reconocida la interrelación entre la acción hormonal y los niveles de calcio en el metabolismo celular en plantas (Wylie, Ryugo y Sachis, 1970 y Yans, 1969).

Estos resultados son prometedores para el control de la abscisión que provoca el CEPA, inductor de la floración sobre los árboles de cítricos, por lo que se debe continuar ensayando su efecto en el período de la inducción, así como estudiar con profundidad sus mecanismos y vías de acción.

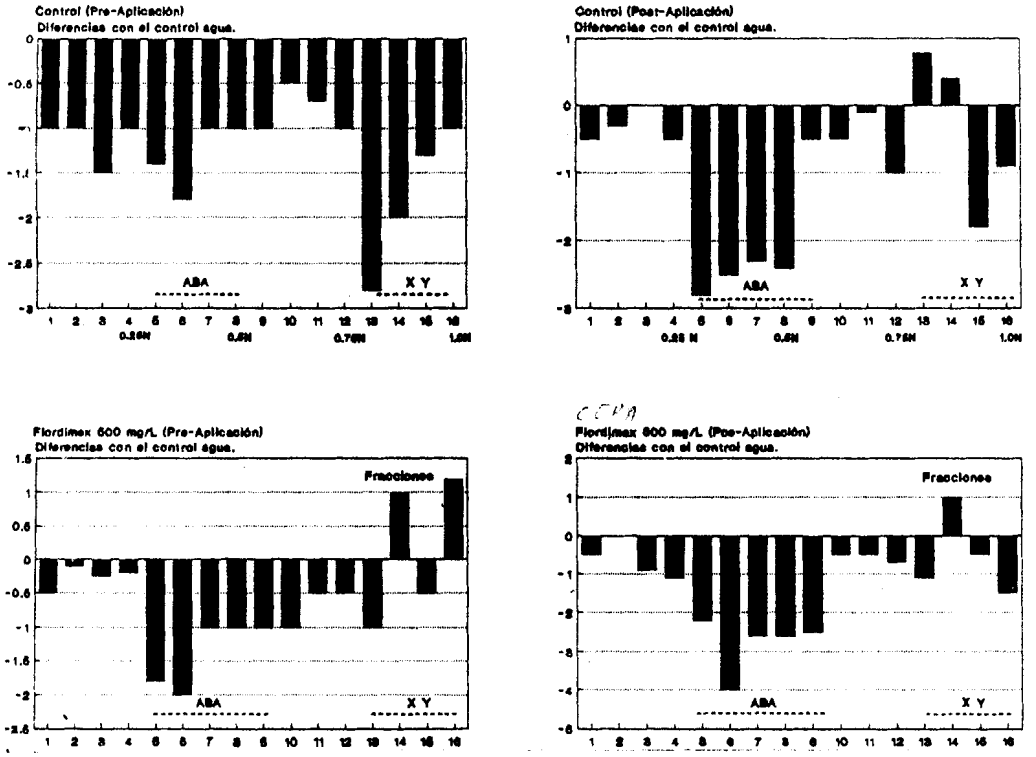
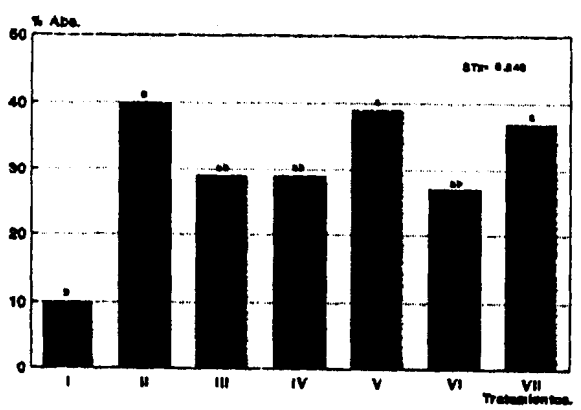
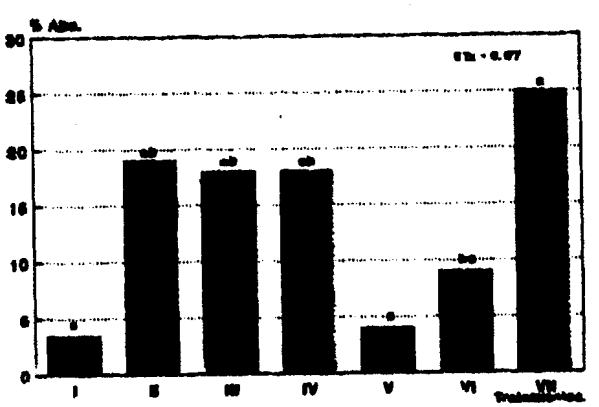


Figura 4. Cromatografía en DEAE Sephadex (HOAc/Ch3-OH 80 %) y subsecuente bioensayo en arroz Cuba-86





SIMBOLOGIA
I. CONTROL
II. CEPA 500 mg/L
III. CEPA 500 mg/L + CaAc2 0.06 M
IV. CEPA 500 mg/L + CaCl2 0.06 M
V. CEPA 500 mg/L + CaCl2 0.07 M
VI. CEPA 500 mg/L + CaCO3 0.06 M
VII. CEPA 500 mg/L + CaCO3 0.07 M

Figura 5. Comportamiento de la abscisión foliar

Figura 6. Efecto del CEPA y aditivos sobre la abscisión de frutos

BIBLIOGRAFÍA

Actividad de las peroxidasas y niveles endógenos de ABA y GA_3 como respuesta a las aplicaciones de CEPA y PP-333 en lima Persa (Citrus latifolia Tan). /M. Escalona... /et al./.- **En**: Simp. Int. Cit. Tropical, 1986.- t2, p. 47-54.

Bar-Akiva, A. Effect of Foliar Application of Nutrient on Increasing of Valencia Orange. Hort. Sci. (Alexandria)10:69-70, 1975.

Borroto, C. G. /et al./. Increasing Citrus Flowering under Tropical Conditions Using Plant Growth Regulators. Abstract Int. Citrus Cong. (Brasilia):34, 1984.

Burg, S. P. Ethylene Plant Senescence and Abscission. Plant. Physiol. (Alexandria)43:150-151, 1988.

Control de la floración en cítricos. Relación con los contenidos de ácido giberélico y ácido abscísico. /C. G. Borroto... /et al./.- **En**: Simp. Int. Cit. Tropical, 1986.- p. 305.

Dathe, W., G. Schneider y G. Sembdner. Endogenous Gibberellins and Inhibitors in Caryopses of Rye. Biochem. Physiol. Pflanzen (Dordrech)178:313-316, 1978.

Dathe, S. P. y G. Sembdner. Endogenous Plant Hormones of the Broad Bean, Vicia faba L. II Gibberellins and Plant Growth Inhibitors in Floral Organs during Their Development. Biochem. Physiol. Pflanzen (Dordrech)175:599-610, 1980.

Dathe, S. P. y G. Sembdner. Endogenous Plant Hormones of the Broad Bean, Vicia faba L. III.- Distribution of Abscisic Acid and Gibberellins in the Pistil at Anthesis. Biochem. Physiol. Pflanzen (Dordrech)176:590-594, 1981.

Goldschmidt, E. E. y R. Goren. Increase in Free and Bound ABA during Natural and Ethylene Induced Senescense of Citrus Fruit Peel. Plant Physiol. (Alexandria)51:879-882, 1973.

González, J. y C. G. Borroto. Use of Plant Growth Regulator to increase Citrus Flowering Induction. Int. Symp. Plant Growth Regulators Abst. 26, 1984.

Hedrich, R. Calcium and Calcium-Regulated Ion Channels in Guard Cells./R. Hedrich.- **En**: Abst. 14th Int. Conf. on Plant Growth Subst., 1991.- p. 101.

Hoque, E. W. /et al./. Abscisic Acid and Its B-D Glucopyranosil Ester in Samplings of Scots Pine (Pinus silvestris L.) in Relation to Water Stress. Plant Physiol. Pflanzen (Dordrech)178:287-295, 1983.

Iglesias, R. Influencia de la mezcla del Ethrel con urea y carbonato de sodio en la floración, calidad del fruto y maduración de los hijos de piña var. Española Roja. Cultivos Tropicales (La Habana) 1(2):117-129, 1979.

Iwahori, S. y J. T. Oobata. Alleviative Effect of Calcium Acetate on Defoliation and Fruit Drop Induced by 2-chloroethylphosphonic Acid in Citrus Sci. Hort. (Amsterdam)12:261-265, 1980.

Mayk, S. y A. H. Halevy. Interrelationships of Ethylene and Abscisic Acid in the Control of Rose Petal Senescence. Plant Physiol. (Alexandria)50:341-347, 1972.

Meyer, A. /et al./. Occurence of the Plant Growth Regulator Jasmonic Acid in Plant. J. Plant Growth Regulator (Nueva York)3:1-8, 1984.

Milborrow, B. V. The Chemistry and Physiology of ABA. Rev. Plant Physiol. (Alexandria)25:259-307, 1974.

Monselise, S. P. The Use of Growth Regulator in Citriculture. Sci. Hort. (Amsterdam)11:151-162, 1979.

Monselise, S. P. y A. II Halevy. Chemical Inhibition and Promotion of Citrus Flower Bud Induction. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. (Nueva York)84:141-146, 1964.

Moss, G. The Use of Growth Regulator in Citrus Culture. CIBA GEIGY. Agrochemical Tech. 4:61-66, 1975.

Pérez, M. del C. Algunos aspectos relacionados con la abscisión de hojas y frutos en cítricos. CIDA. Bol. de Reseñas. Cítricos y otros Frutales (La Habana)5:7, 1981.

Poovaiah, G. K. Inhibition of Abscission by Calcium. Plant Physiol. (Alexandria)51:848-851, 1980.

Rasmussen, G. K. Efecto de los aditivos sobre la influencia de los inductores de la abscisión sobre naranja Valencia en la Florida. CIDA. Inf. Express. Cítricos y otros Frutales 6(1), 1980.

Rivero, W. /et al./. Algunos aspectos del incremento y desarrollo de los frutos en lima Persa (Citrus latifolia•Tan). Agrotecnia de Cuba (La Habana)9(1):109-111, 1977.

Schachler, G. Promotion of Flowering in Picea abies Clones by Different Bioregulators. /G. Schachler , J. Matschke.- **En**: 14th Int. Conf. on Plant. Growth Subst., 1991.-p. 32.

Van der Meulen, R. M., F. Heidekamp y M. Wang. Effects of Abscisic Acid on Intracellular Calcium Level and Gene Expression in Barley Aleurone Protoplasts. /R. M. Van der Meulen, F. Heidekamp, M. Wang.- **En**: 14th Int. Conf. on Plant Growth Subst., 1991.-p. 101.

Weaber, R. J. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura (Ed) Trillas. México 217-240, 1972.

Wylie, A. W.; K. Ryugo y R. M. Sachis. Effect of Cycocel and ABA on Bud Growth of Redblush Grapefruit. J. Amer. Soc. Hort. Sci. (Alexandria)94:8-10, 1970.

Yans, S. F. Ethylene Evolution from 2-Chloroethyl Phosphonic Acid. Plant Physiol. (Alexandria)44:1202-1204, 1969.

Recibido: 17 de marzo de 1995
Aceptado: 21 de abril de 1995