

Una línea en desarrollo

PROGRAMAS ARMÓNICOS DE HORMONAS VEGETALES EN UVA DE MESA

Resulta muy común usar una fitohormona buscando un objetivo específico. Sin embargo, existe una interrelación entre las diferentes hormonas donde muchas veces el efecto corresponde a varias de ellas en conjunto. También ocurre que un único producto incida en la característica deseada pero simultáneamente en otros aspectos no siempre beneficiosos. Se trata de un tema complejo donde aún queda mucho por investigar, indica el especialista Alonso Pérez, sin embargo los conocimientos logrados ya permiten hacer propuestas para evitar el abuso de giberélico, por ejemplo.

Alonso Pérez, Ph.D., profesor de la Pontificia Universidad Católica de Chile, investigador principal de "Manejo de reguladores de crecimiento en vid de mesa y su impacto en la calidad de fruta y post cosecha", actualiza la información obtenida en esta materia por su grupo de trabajo en el Laboratorio de Fisiología Frutal de dicha casa de estudios.

En primer lugar puntualiza que entre las hormonas vegetales existe una regulación cruzada o *crosstalk*: muchas veces un efecto se origina en la interacción de dos o más de ellas. Frecuentemente eso hace difícil entender su acción y, por otra parte, en ocasiones los procesos se modifican en forma radical al usar bioestimulantes.



Las hormonas conocidas son el etileno, las auxinas, las giberelinas, las citoquininas, el ácido abscísico, el ácido jasmónico, los bra-sinoesteroídes, el ácido salicílico, las estrigolactonas y algunos expertos/investigadores también incluyen a las poliaminas.

UNA REVISIÓN DEL ORIGEN DEL RACIMO

La formación del primordio de racimo se inicia en el año anterior a aquél en el cual efectivamente se expresa la inflorescencia. En un momento dado detiene su crecimiento y permanece en latencia hasta el fin del invierno del siguiente. Todo comienza en una yema latente en la axila de la yema pronta. Esta última se llama así porque, a diferencia de la yema latente, genera laterales durante la misma temporada (feminelas).

El primordio que resultará en una inflorescencia se origina en una estructura anterior que también podría generar zarcillos: hay una competencia que en algún momento se define y el desarrollo va hacia zarcillo o hacia racimo. Anlage es el nombre de dicha estructura primordial o primordio no comprometido, que terminará en zarcillo o racimo floral. El anlage se divide y forma brazos. Si solo forma un brazo interno (cerca del ápice vegetativo) y otro externo, sin mucha más ramificación, entonces saldrá un zarcillo; en cambio si el brazo interno en particular se ramifica muchas veces, y también el brazo externo, se terminará en un primordio de inflorescencia bien desarrollado.

En la zona central de Chile el proceso descrito parte en las primeras semanas de octubre o un poco antes, dependiendo de la fecha de brotación. Continúa hasta diciembre como máximo, cuando las yemas reciben el estímulo para entrar en receso. El primordio ya no se diferenciará más hasta que la yema vuelva a entrar en actividad al final del invierno de la temporada siguiente, es decir justo antes de brotar. Luego formará los

brazos de la inflorescencia y las flores individuales.

En síntesis, el primer año ocurren tres etapas para del futuro racimo: formación de la yema, formación del primordio no comprometido y diferenciación a primordio de inflorescencia.

INFLUENCIA DE LA LUZ Y LA TEMPERATURA EN LA FORMACIÓN DE PRIMORDIOS DE INFLORESCENCIA

¿Qué hace que un primordio no comprometido, un anlage, termine como zarcillo o como primordio de inflorescencia? Básicamente intervienen en el proceso la temperatura, la luz (radiación) y los balances hormonales.

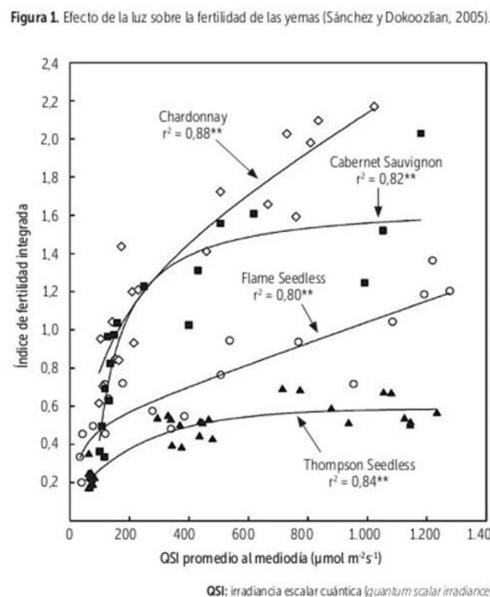
La figura 1 muestra la relación entre un índice de fertilidad y la luz medida como microcromos por metro cuadrado por segundo. La fertilidad corresponde a la capacidad de fructificar de la yema contando el número y tamaño de los primordios. Se trata de un estudio muy interesante pues por primera vez se vinculó en forma cuantitativa la luz y la fertilidad. Se aprecia que las variedades de vino (Chardonnay y Cabernet Sauvignon) presentan una capacidad de fructificar y generar primordios mayor que las variedades



Las cubiertas pueden aumentar o disminuir la fertilidad en lugares específicos, dependiendo de las condiciones de luz y temperatura.



La fertilidad de la uva de mesa depende de las primeras etapas de formación del racimo, que ocurren en el año anterior.



de uva de mesa. Estas últimas muestran dos tipos de respuesta: Thompson seedless aumenta la fertilidad al incrementarse la luz, pero se satura rápidamente y se estabiliza; Flame seedless exhibe una tendencia lineal, o sea a mayor radiación más alto el índice de fertilidad. Se entiende entonces la dificultad

de Thompson para alcanzar una fertilidad comparable a otros cultivares. Flame seedless, en tanto, si bien presenta una fertilidad basal que tampoco es muy buena, mejora sustancialmente con la exposición a la luz.

A partir de la figura 1 es posible postular que el mínimo de luz para tener una fertilidad

FORMACIÓN DE FLORES EN INVIERNO, UN HECHO ANECDÓTICO

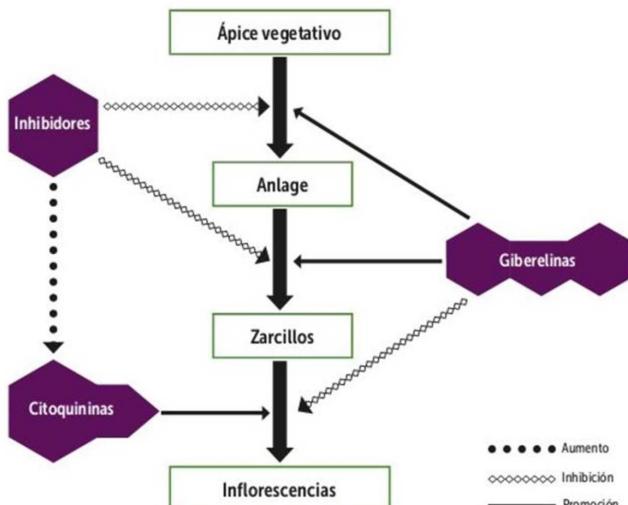
En situaciones muy excepcionales puede ocurrir el desarrollo de flores durante el invierno, cuando no se logran plenamente las condiciones de receso invernal y hay altas temperaturas nocturnas. Se trata, sin embargo, de un hecho aneclótico, poco relevante, en especial en climas de temperatura baja durante el receso.

dad aceptable en uva de mesa se ubica en torno a los $300 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$. A nivel de terreno, en un día despejado de verano a medio-día puede haber $2.000 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$; los $300 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ se producen bajo una canopia con un promedio de dos capas de hojas, aproximadamente.

En cuanto a temperatura, el requerimiento es relativamente alto. En cámara de crecimiento la diferenciación de inflorescencias sucede sobre los 22°C , y la diferenciación máxima de muchos cultivares se produce con 25 a 28°C e incluso hasta 30°C . Esta condición resulta exigente para primaveras como las de la zona central de Chile, inestables, con ocurrencia de días fríos, nubosos, sin mucha frecuencia de altas temperaturas. Copiapó y Perú, en cambio, claramente tienen mayor facilidad para generar un mayor número de primordios de inflorescencias. Afortunadamente no se requiere de dichas temperaturas en forma continua, sino que basta con pulsos de un par de horas al día para lograr la diferenciación.

En Chile las cubiertas plásticas han demostrado aumentar la temperatura ambiental, sobre todo al inicio de la temporada, aunque disminuyen la luminosidad en un cierto grado, dependiendo de la calidad del material y de su antigüedad. El balance de ambos

Figura 2. Esquema hipotético del control hormonal en la formación del anlage, zarcillos e inflorescencias en uvas (*Vitis vinifera L.*). Srinivasan y Mullins, 1980.



factores hace que las cubiertas puedan aumentar o disminuir la fertilidad en lugares específicos. Si la limitante es la luz, probablemente la fertilidad se reducirá; si es la temperatura, posiblemente aumentará.

HORMONAS QUE INTERVIENEN EN LA "DISPUTA" ZARCILLO-INFLORESCENCIA

La figura 2 corresponde a un esquema de la acción hormonal sobre el proceso. El anlage se forma desde el ápice vegetativo. A partir del anlage surge un primordio de zarcillo y, si la ramificación prosigue, un primordio de inflorescencias.

Las giberelinas son cruciales en la estimulación del anlage y en la división que lleva a la primera ramificación, al primordio de dos brazos. Pero luego inhiben la generación de inflorescencias. Las citoquininas, por su parte, promueven la ramificación del brazo interno y del brazo externo y, por lo tanto, la formación de primordios de inflorescencias. Los "inhibidores" corresponden a antigiberelícos aplicados en el estudio de los años 70 de donde se extrajo la figura, investigación que demostró el efecto de estas hormonas y que fue ratificado en años recientes a nivel molecular.

De acuerdo a lo señalado, se requiere que el balance cambie desde un predominio inicial de giberelinas a una concentración de citoquininas. La mantención de un nivel alto de giberelinas podría significar que el desarrollo termine solo en zarcillos, sin formación de primordios de inflorescencias.

LAS APLICACIONES DE HORMONAS PARA UN OBJETIVO PUEDEN TENER EFECTOS EN OTROS PROCESOS

Como se aprecia en la figura 3, al

Las aplicaciones exógenas de hormonas para elongar el raquis, ralear bayas o hacerlas crecer, tienen su mayor efecto cuando dichos procesos están ocurriendo. Sin embargo, debe tenerse presente que también van a estar incidiendo sobre otros procesos. Por ejemplo, la aplicación para elongar el raquis puede afectar el raleo –a veces ambos efectos se confunden un poco– pero asimismo adelantar la madurez de las bayas, que todavía están herbáceas. Y en la época de hacer crecer las bayas el ácido giberélico puede producir notables alteraciones del proceso de madurez. A menudo pensamos en una aplicación para un efecto, cuando estas hormonas son capaces de alterar varios procesos simultáneamente.

Por ejemplo un ensayo de la influencia de ácido giberélico, aplicado en Crimson seedless en el 80% de floración, sobre el peso promedio de racimos y la fertilidad de retorno al año siguiente, mostró que efectivamente el peso de los racimos disminuyó por el raleo, principalmente, pero en la temporada siguiente se observó una notable disminución de racimos por parra (Dokoozlian, 2001). El fenómeno se explica justamente por la inhibición en la formación de primordios de inflorescencia. Esto puede ocurrir incluso en cultivares de muy buena fertilidad en la medida que se use ácido giberélico en etapas tempranas y hasta algunos momentos iniciales del desarrollo de baya.

El ácido giberélico se usa ampliamente para estimular el crecimiento de las bayas en variedades sin semillas. Aunque en bastante menos

cantidad, también se utiliza para variedades modernas.

ACCIÓN DE DIFERENTES HORMONAS DURANTE EL DESARROLLO DEL RACIMO

La figura 4 muestra el desarrollo de la baya, una curva doble sigmoidal con una primera fase exponencial de crecimiento, el cual luego se detiene (fase 2) y se reanuda hasta la maduración (fase 3). La mayor parte de lo que se observa como crecimiento, incluso en la fase 1, se debe a expansión de las células. La división celular se encuentra concentrada en un par de semanas después de floración y resulta poco perceptible, aunque es muy importante desde el punto de vista del desarrollo. La fase 3 se caracteriza por ablandamiento, expansión celular más acumulación de compuestos y azúcar, y cambios de color (en ese orden).

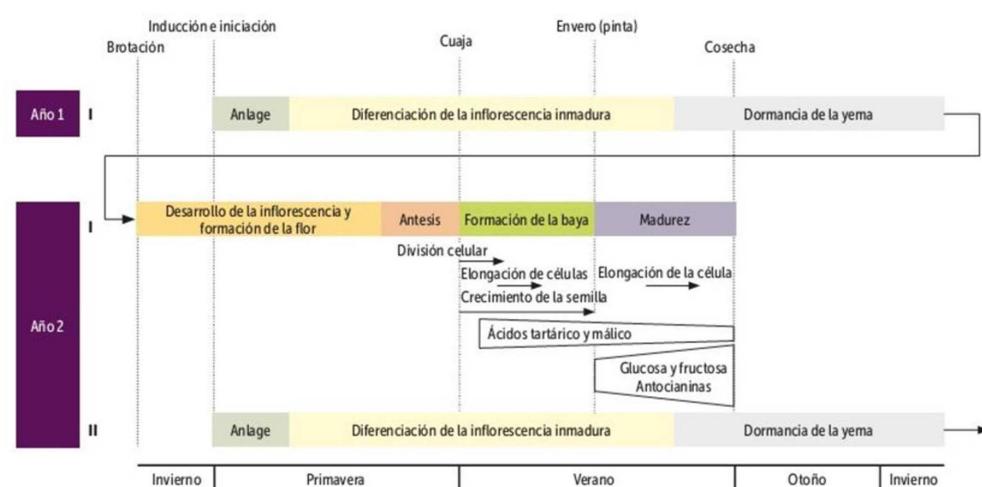
El cuadro 1 (página 66) esquematiza la regulación natural, en el racimo, de algunos procesos, no todos, vinculados con distintas hormonas, hasta donde se ha podido dilucidar y quedando muchos detalles por conocer.

Las auxinas aumentan en la etapa de baya verde a baya verde más madura. Si bien son difíciles de estudiar, se sabe que tienen un papel relevante en la retención o caída de bayas luego de la cuaja y también en el desarrollo inicial del fruto. Las citoquininas tienen un rol parecido. Las poliaminas y el ácido jasmónico muestran mayores niveles en este mismo periodo, pero no están claramente asociados a un efecto de división o crecimiento.

En el envero o pinta el ácido abscísico (ABA) es relevante en la madurez

al mismo tiempo que está ocurriendo el desarrollo final de las inflorescencias y la formación de flores, se está también formando la yema compuesta que dará origen a las flores de la temporada siguiente. Así, las prácticas de manejo que se efectúan para regular el número de flores, elongar el raquis y el escobajo, pueden eventualmente afectar la diferenciación de las yemas si estas son alcanzadas por los productos. Particularmente la utilización de ácido giberélico destinada a modificar la estructura del raquis, la estructura del racimo, el número de bayas y el tamaño de bayas, tiene el potencial de alterar el proceso de diferenciación de primordios de inflorescencias del año venidero. Se trata de un efecto no deseado ni claramente apreciado.

Figura 3. Representación esquemática bianual del ciclo reproductivo y de desarrollo de la uva. El comienzo y término de las etapas fenológicas y la cosecha puede variar considerablemente de acuerdo a la región, clima estacional, cultivo y manejo agronómico (a partir de Coombe y Iland, 2004).



Primordio de inflorescencia visto con lupa (análisis de yemas).



de la baya. Los niveles de etileno aumentan. Los brasinoesteroides (BR) se gatillan, cumplen un rol importante, y podrían participar (también) en momentos tempranos en la retención o caída de bayas.

No aparece en la figura, pero Alonso Pérez agrega que después de pinta algunos procesos podrían estar mediados por los BR y cambios en el tipo de actividad del ABA que se encuentra presente.

LA REVALORIZACIÓN DE LAS CITOQUININAS PARA AUMENTAR LA DIVISIÓN CELULAR

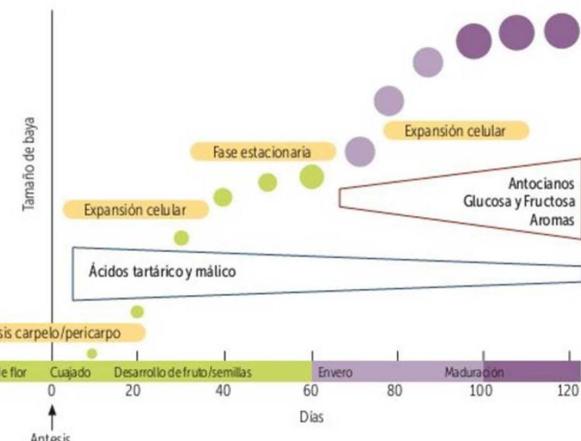
Hasta poco antes del año 2000 se intentó estimular el crecimiento de la baya con el uso conjunto de ácido giberélico y citoquininas en la fase 1 de su desarrollo. Sin embargo, se generaban problemas tales como rigidez del

escobajo que se hacía más quebradizo, desgrane y pudriciones. Eso llevó a descartar las citoquininas en esa etapa, "culpándolas" de un hecho que en realidad se derivaba de la integración de ambas hormonas.

Las citoquininas tienen que ver con la división celular durante un periodo muy corto, desde algunos días antes de cuaja a algunos días después. Las giberelinas, en cambio, se asocian a la expansión celular, que ocurre durante un tiempo más largo. Pensando en esto y en el uso a veces excesivo de ácido giberélico, abusando de la expansión y provocando fisuras, *hairline* y prudiciones en postcosecha, se probó un programa en el cual se tiene en cuenta que la división ocurre temprano y la expansión en forma posterior.

La evidencia científica (Coombe, 1976) indica que la división celular su-

Figura 4. Desarrollo de la baya a partir de antesis.



cede en su mayor medida previamente a antesis. Por lo tanto, el momento de intervenir para lograr más células corresponde a la formación de la flor. De allí nació la idea de usar citoquininas y estimular el desarrollo del ovario en prefloración.

Ensayos con partidura inducida en cosecha demostraron que el uso de las citoquininas (CPPU) en prefloración disminuye las fisuras asociadas al crecimiento de la baya y aumenta la resistencia de la cutícula.

Al analizar el uso excesivo de ácido giberélico se observó lo contrario. Se comparó 5 aplicaciones versus 6, con una aplicación más bien tardía, cerca a pinta, y se detectó un incremento de bayas con mayor cantidad de fisuras.

Una gran conclusión de la investigación indicada es la necesidad de establecer programas armónicos de aplicaciones de reguladores de crecimiento, sin abusar de algunos de ellos, como sucede con el ácido giberélico.

Cuadro 1. Esquema de los principales eventos involucrados en el control hormonal del desarrollo y maduración del racimo correspondientes a las fases EL32-EL38 del sistema modificado E-L (Fortes, Teixeira y Agudelo-Romero, 2015).



Verde y verde más madura (EL32-EL34)	Enero (EL35)	Madurez media y madurez de cosecha (EL36-EL38)
Síntesis de brasinoesteroides	Niveles de ABA ↑	Conjugación de ABA
Síntesis de etileno	Síntesis de ABA	Niveles de ABA ↓
Niveles de auxinas ↑	Vías de señalización y síntesis mediadas por BR	Vías de señalización mediadas por ABA
Niveles de citoquininas ↑	Niveles de BR ↑	Vías de señalización mediadas por BR
Niveles de giberelinas ↑	Niveles de etileno ↑	Señalización de etileno
Síntesis de ácido jasmónico	Señalización de auxinas	Conjugación de AIA
Niveles de ácido jasmónico ↑	Síntesis de poliaminas	Vías de señalización mediadas por citoquininas
Niveles de poliaminas ↑		Receptores de ácido giberélico

ABA: ácido abscísico. AIA: ácido indolacético. JAZ: JASMANTE-ZIM-DOMAIN represores centrales de la vía de transducción de los jasmonatos.

INTEGRACIÓN DE DISTINTAS HORMONAS PARA EVITAR EL USO EXCESIVO DE GIBERÉLICO

En esta línea se empezaron a evaluar estrategias que tuvieran más de una fuente de reguladores de crecimiento. Es el caso de un experimento factorial en Thompson seedless, donde el factor 1 correspondió a la aplicación de CPPU en preantesis, el factor 2 a la aplicación de ácido giberélico y brasinoesteroides, y se ensayaron combinaciones de ambos factores resumidas en el cuadro 2 (página 66).

Al momento del envero, la única diferencia significativa encontrada correspondió al diámetro equatorial de baya, cuyo promedio fue mayor en aquellos tratamientos que incorporaron la citoquinina en preflor. No hubo diferencias estadísticas en peso de

baya ni en sólidos solubles.

En cosecha no se identificaron diferencias significativas en peso de racimo, peso de bayas, diámetro polar (largo de baya), diámetro equatorial, acidez ni sólidos solubles, entre tratamientos considerados individualmente. No obstante, los tratamientos que recibieron un alto giberélico en su conjunto, con o sin citoquinina en preflor, tuvieron un mayor diámetro equatorial. Los tratamientos con menos giberélico y uso de brasinoesteroides tuvieron un sutil pero significativo menor diámetro equatorial. Sin embargo, plantea Alonso Pérez, las bayas eran de buen tamaño en todos los casos. Al analizar los sólidos solubles se encontró que estos bajaron con las aplicaciones altas de ácido giberélico, vale decir que disminuyó la capacidad

de madurar normalmente en relación a los otros tratamientos.

Cuando se sometió los tratamientos a la prueba de partidura inducida en cosecha, el de peor resultado fue con alto giberélico sin citoquinina, seguido del que combina giberélico más brasinoesteroides análogo, también sin citoquinina. En cambio el de menor nivel de fisuras fue el que combina citoquinina preflor, un programa de giberélico liviano y brasinoesteroides sintéticos (figura 5), seguido por uno con la misma combinación pero brasinoesteroides análogo (comercial).

El programa integral, más armónico, maximiza los beneficios de disminución de partidura inducida, que es un índice importante de calidad postcosecha, plantea Alonso Pérez.

OTROS BENEFICIOS DE CITOQUININAS PREFLOR: ADELANTO DE COSECHA, REDUCCIÓN DE DESGRANE Y FIRMEZA

En una fase experimental, con aplicaciones de campo en cuarteles completos, se comparó el programa del agricultor con un tratamiento que incluyó citoquinina preflor, un menor uso de giberélico respecto del productor y brasinoesteroides en el periodo cercano a envero (pinta). El resultado fue una mínima disminución del peso de baya y un diámetro equatorial idéntico, pero una anticipación de una semana en la fecha de cosecha gracias al adelanto y aumento en la cantidad de sólidos solubles. El agricultor asimismo reportó, fuera de la evaluación, una disminución importante del desgrane en packing.

En pruebas de firmeza, siempre que se usa citoquinina en preflor, sin excesos de ácido giberélico, se verifica un aumento de la firmeza. Al combinar tratamientos de citoquinina con giberélico durante etapas posteriores, no hay efecto o, si lo hay, es de disminución de la firmeza.

EFEKTOS DE BRASINOESTEROIDES EN COLOR, DIÁMETRO EQUATORIAL Y OTRAS VARIABLES

Se ha detectado una amplia gama de respuestas frente a los brasinoesteroides: de división y de elongación de la célula, resistencia a estreses bióticos y abióticos, tolerancia a enfermedades, regulación de apertura y cierre de estomas, desarrollo del color en bayas y participación en el desarrollo de la baya a inicios de envero. Esta heterogeneidad de acciones se explica porque regulan e interactúan otras hormonas (*crosstalk*).

En ensayos con distintos tipos de brasinoesteroides en Red Globe, todos modificaron la concentración de antocianinas en relación al control y provocaron un cambio significativo en el valor de CIRG (índice para evaluar la coloración roja basado en medición instrumental). No solo aumentaron el color, sino que favorecieron el incremento preferencial de cianidina y peonidina, que dan las tonalidades rojas, en relación a las antocianinas que tienden al púrpura.

Sin embargo, esto no ocurre de la misma forma en todos los cultivares. Experiencias con Crimson seedles, por ejemplo, muestran diferencias de acumulación de antocianinas con distintos niveles de aplicación de brasinoesteroides, pero la apreciación del color visual o medido instrumentalmente no varía respecto del testigo sin aplicación. Al parecer es una característica de Crimson, que incluso con aplicaciones de ácido abscísico y etileno muestra dificultades en ese sentido.

Como se mencionó, los brasinoesteroides tienen efecto también sobre la división y la expansión celular, de modo que si aumentó el diámetro equatorial con aplicaciones en pinta, sin aumentar el color pero también sin disminuirlo. Ello tiene que ver con la acción de los brasinoesteroides sobre el proceso de madurez: no disminuyen el azúcar, incluso lo aumentan, y en algunos cultivares también incrementan el color.

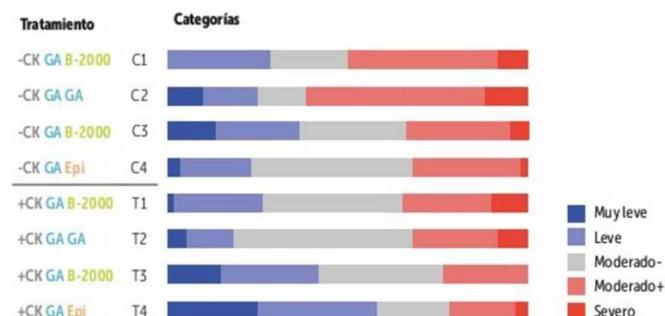
Se sabe que el ácido abscísico y el etileno pueden aumentar el color, pero también tienen efectos negativos en postcosecha, con bayas cansadas, blandas y empeoramiento de la apariencia

Cuadro 2. Ensayo de programas con distintos reguladores de crecimiento en Thompson seedless.

Preflor (g ha ⁻¹)	Bayas 4 mm (g ha ⁻¹)			Término fase 1 de crecimiento (g ha ⁻¹)	Pinta (g ha ⁻¹)	Tratamiento
02 oct	05 oct	25 nov	04 dic	10 dic	16 dic	05 ene
0 0		70	80	70	0,12	-CK GA B-2000 C1
					80	-CK GA GA C2
		30	40	30	0,06	-CK GA B-2000 C3
					0,4	-CK GA Epi C4
5 5		70	80	70	0,12	+CK GA B-2000 T1
					80	+CK GA GA T2
		30	40	30	0,06	+CK GA B-2000 T3
					0,4	+CK GA Epi T4

-CK: sin citoquininas. +CK: con citoquininas. GA: ácido giberélico. Epi: 24-epi-brasinoílico: brasinoesteroides sintético, de investigación. B-2000: brasinoesteroides análogo, comercial.

Figura 5. Prueba de partidura inducida en cosecha. Hubo diferencias significativas para las categorías muy leve ($p < 0,0001$), moderado ($p = 0,0019$), moderado+ ($p = 0,0393$) y severo ($p = 0,0290$).



visual. Con brasinoesteroides hasta ahora todo indica que no provoca efectos indeseados en postcosecha.

**TODAVÍA QUEDA MUCHO POR SABER,
 PERO RESULTA POSIBLE UN PROGRAMA
 ALTERNATIVO**

Un reciente estudio, que refleja la complejidad de la interacción de las hormonas, mostró que al impedir el crecimiento físico de las bayas se detiene la secuencia de ablandamiento, expansión de la baya-acumulación de azúcares y finalmente desarrollo de antocianinas-color en el envero o pinta. A nivel hormonal en esta secuencia el rol clave corresponde al ácido abscísico, mientras las auxinas y las citoquinas son reportadas como antagonistas de la maduración y en algunos casos también las auxinas porque podrían inhibir el crecimiento, particularmente durante en los estados tardíos de expansión. Como se aprecia, hay una serie de aspectos a considerar cuando varias hormonas intervienen en procesos complejos.

Frente a la consulta sobre una recomendación de uso de ácido giberélico, citoquinas y brasinoesteroides a partir de los resultados disponibles, Alonso Pérez señala, a grandes rasgos:

"Podemos llegar a unos 200 a 300 g totales de ácido giberélico por año y lograr un resultado súper comparable al

"Podemos llegar a unos 200 a 300 g totales de ácido giberélico por año y lograr un resultado súper comparable al de los programas tradicionales, con posibles aumentos en calibre, fruta mejor terminada y mayor potencial en postcosecha".

de los programas tradicionales, con posibles aumentos en calibre, fruta mejor terminada y mayor potencial en postcosecha. Eso se basa en la utilización de citoquinas en preflores -4 a 6 ppm en una o dos aplicaciones dependiendo de las condiciones de uniformidad en el huerto- y tal vez algún apoyo durante la etapa final de desarrollo de la baya que en nuestro caso ha sido mediante pruebas de brasinoesteroides". Ra



Prueba de partidura inducida.