

Efecto del ácido giberélico y la 6-bencilaminopurina sobre el desarrollo de yemas en injertos de cacao (*Theobroma cacao* L.)

Effect of gibberellic acid and 6-bencilaminopurine on bud development of cacao grafts (*Theobroma cacao* L.)

Julián F. Cárdenas-Hernández^{1,2,4}, Javier Giovanni Álvarez-Herrera², Eduardo Barragán Q.³ y Carlos Mauricio Rivera¹

RESUMEN

Gran parte de los cultivos de cacao en el país son viejos y necesitan ser renovados debido a sus bajos rendimientos. Por esta razón se aborda la producción masiva de plántulas injertadas con materiales de alta productividad, que sin embargo presentan problemas en el prendimiento y desarrollo de las yemas. En el Centro de Investigación Nataima-Corpoica (Espinal, Tolima), plántulas de cacao del clon IMC67 tratadas con desbrote apical fueron injertadas con yemas de los clones CCN51 e ICS95. El ensayo siguió un diseño completamente aleatorizado con siete tratamientos, tres de ellos correspondientes a concentraciones de 5, 10 y 15 mg L⁻¹ de ácido giberélico (AG₃), y otros tres aplicando 6-bencilaminopurina (6BAP) en las mismas concentraciones, más un testigo sin aplicación de hormonas. Cada 3 días se midieron la altura, el diámetro, la longitud, el número de hojas y el área foliar del injerto, además de su masa fresca y seca al final del experimento, el cual duró 30 días. El AG₃ permitió alcanzar los mayores valores en longitud, número de hojas, área foliar y masa fresca y seca del injerto. Para los mismos parámetros, los tratamientos con 6BAP alcanzaron valores similares a los obtenidos con AG₃ (con diferencias estadísticas en algunos casos), además de los mayores diámetros del injerto. Dentro de las aplicaciones de AG₃, la realizada a una concentración de 10 mg L⁻¹ mostró los mejores resultados en ambos clones. Sin la aplicación de hormonas, las yemas del clon ICS95 desarrollaron una mayor área foliar y alcanzaron mayores valores de masa fresca y seca que las yemas del clon CCN51. Sin embargo, después de aplicar los tratamientos, los dos clones presentaron valores similares.

Palabras clave: Clon IMC67, Clon CCN 51, Clon ICS 95, desbrote apical, reguladores de crecimiento.

ABSTRACT

Most of the cacao plantations of Colombia are certainly old and need to be renewed due to low yield. For this reason, the present work takes on the massive production of high yielding scions, which, notwithstanding, have shown grafting problems, specifically regarding bud initiation and further growth. In Nataima-Corpoica Research Center, located in the municipality of Espinal (Tolima, Colombia), buds of cacao clones CCN51 and ICS95 were grafted onto shoot tip excised seedlings of clone IMC67. The experiment followed a completely randomized design with seven treatments consisting in 5, 10 and 15 mg L⁻¹ solutions of both gibberellic acid (GA₃) and 6-benzylaminopurine (6BAP), plus a hormone-free control. Scion height, length, diameter, number of leaves and foliar area were measured every three days. At the end of the experiment, which took a total of 30 days, scion fresh and dry mass were also determined. Regarding scion number of leaves, foliar area and fresh and dry mass, the highest counts were reached due to the GA₃ treatments. Besides the highest diameters, the 6BAP treated scions reached close records to those of the materials that received GA₃, although sometimes exhibiting statistical differences. Among the GA₃ applications, the 10 mg L⁻¹ one showed the best results in both clones. In the control treatment, clone ICS95 developed larger foliar area and fresh and dry mass records than clone CCN51. However, after receiving the hormone treatments, both clones showed similar data.

Key words: Clone IMC67, Clone CCN51, Clone ICS95, shoot tip excision, growth regulator.

Introducción

El 70% de las plantaciones viejas de cacao en el país, necesitan ser rehabilitadas debido a los bajos rendimientos que están originando. Existen árboles que genéticamente presentan baja producción y una gran cantidad de estos

son improductivos; además, la alta presencia de enfermedades y el deficiente manejo agronómico, hacen que los rendimientos se reduzcan considerablemente (Palencia *et al.*, 2006).

Fecha de recepción: 21 de abril de 2009. Aceptado para publicación: 5 de marzo de 2010

¹ Departamento de Agronomía, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá (Colombia).

² Grupo de Investigaciones Agrícolas, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), Tunja (Colombia).

³ Área de Ecofisiología Vegetal, Centro de Investigación Nataima, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Espinal (Colombia).

⁴ Autor de correspondencia. julianentero@gmail.com

Por esta razón, se está llevando a cabo la producción masiva de plántulas de cacao injertadas con materiales previamente establecidos para cada región agroecológica con el fin de renovar las plantaciones viejas con clones de alto rendimiento, resistentes a plagas y enfermedades o tolerantes a toxicidad por aluminio (Ramírez, 2006). Sin embargo, los injertos han mostrado problemas fisiológicos en su desarrollo posiblemente relacionados con desbalances hormonales.

En cultivos *in vitro* la diferenciación en raíces y follaje depende de la relación auxina: citoquinina en el medio de cultivo. Mientras una relación auxina: citoquinina alta estimula la formación de raíces, una baja relación ayuda a la formación de follaje. A niveles intermedios, el tejido crece como un callo indiferenciado (Skoog y Miller, 1965), lo cual puede ocurrir naturalmente como respuesta a heridas o a la unión de injertos donde los tallos de dos plantas distintas están interactuando. En yemas, la citoquinina endógena es baja debido a que el sitio principal de síntesis son las raíces, por lo que la adición exógena de citoquininas en los medios de establecimientos es generalizada (Jiménez, 1998).

Las citoquininas inician el crecimiento de las yemas laterales (Taiz y Zeiger, 2002). La benciladenina (citoquinina) se utiliza para promover la brotación lateral en numerosas especies (Rease y Burst, 1983) ya que induce la división celular, incrementa el contenido de clorofila a través de la diferenciación de cloroplastos, aumenta la actividad fotosintética, participa en la pérdida de dominancia apical y retrasa la senescencia (Davies *et al.*, 1995).

Las citoquininas están envueltas en el control de la biogénesis y función de los cloroplastos. Estas afectan la ultraestructura de los cloroplastos, las funciones de las enzimas de estos organelos, la acumulación de pigmentos y la tasa de fotosíntesis (Lerbs *et al.*, 1984; Chory *et al.*, 1994; Kusnetsov *et al.*, 1994, 1998, 1999; Yaronskaya *et al.*, 2006). El estado de desarrollo y el metabólico de los plastidios afecta la respuesta de las hojas a la aplicación exógena de citoquininas (Kulaeva *et al.*, 2002).

Por su parte, las giberelinas incrementan tanto la elongación como la división celular (Taiz y Zeiger, 2002). Las giberelinas cumplen un importante papel fisiológico en la elongación de brotes y tallos. Además, estas hormonas promueven la biosíntesis de auxinas e inhiben su degradación por la AIA oxidasa que incrementan su cantidad en la planta (Law, 1987). Al aplicar una giberelina específica, ésta coincidirá a lo sumo con una de las naturales que contiene el vegetal. En *Silene armeria*, el AG₇ promueve la

floración mientras AG₃ no ejerce ningún efecto (Ballester-Olmos, 2005).

Los resultados de la aplicación de giberelinas en yerba mate (*Ilex paraguariensis*) sugieren que las giberelinas están involucradas en el control de la brotación y crecimiento de tallos, observándose una estrecha relación entre la estructura química de la hormona y la respuesta morfogénica del explante (Sansberro *et al.*, 2000).

Cuando se trabaja con injertos, se debe tener en cuenta que después de injertar la yema, la cual estaba dentro de una arquitectura diferente y compleja, pasa a tener un crecimiento longitudinal; bajo estas condiciones el efecto de la dominancia apical es más fuerte (Valdés *et al.*, 2003). Las hormonas de la planta controlan el mantenimiento de este crecimiento que a su vez define la ramificación lateral por el fenómeno conocido como dominancia apical. El crecimiento de las yemas laterales es modulado a través de los efectos antagónicos de las citoquininas (que lo promueven) y las auxinas (que lo inhiben) (Cline, 1994). Muchos investigadores consideran que el crecimiento de la yema depende de la proporción de estas hormonas más que del nivel absoluto de cada una, lo cual sugiere que la relación entre las dos es mantenida por una retroalimentación negativa/positiva (Bangerth, 2000; Valdés *et al.*, 2003).

Con el presente estudio se buscó determinar el efecto del ácido giberélico y la 6-bencilaminopurina sobre el crecimiento y desarrollo de yemas de cacao de los clones CCN51 e ICS95 injertadas sobre el patrón IMC67, con el fin de garantizar que la producción de material vegetal sea de buena calidad.

Materiales y métodos

El ensayo se realizó en el Centro de Investigación Nataima-Corpoica en el municipio de Espinal (Tolima), el cual se encuentra a una altura de 420 msnm, con una temperatura promedio de 28°C y una precipitación anual de 1.400 mm.

Se utilizaron plántulas de cacao del clon IMC67 de tres meses después de trasplante a las cuales se les cortó la yema terminal y se les removieron las hojas dejando solo una a cada plántula. Las plántulas fueron injertadas con yemas de los materiales CCN51 e ICS95, procedentes de ramas jóvenes, utilizando el injerto de parche. A los injertos sometidos a tratamientos se les dio el mismo manejo que al resto de los injertos; se sembraron en una mezcla de tierra, arena y materia orgánica dentro de bolsas de 1 kg y se regaron cada 3 d con manguera; la cantidad de agua aplicada dependió

de la precipitación, de tal forma que el suelo de las bolsas permaneció a capacidad de campo.

Los tratamientos consistieron en la aplicación de tres concentraciones diferentes (5, 10 y 15 mg L⁻¹) de giberelina y citoquinina. Como fuente de giberelinas se utilizó Progibb con 10% de AG₃ y como fuente de citoquininas se utilizó 6BAP a un 98%. Las soluciones se realizaron en agua destilada y desionizada con el fin de garantizar la pureza de la mezcla.

Se utilizó un diseño completamente al azar con siete tratamientos para cada clon (Tab. 1). Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones y la unidad experimental estuvo conformada por una plántula de cacao injertada.

TABLA 1. Tratamientos de ácido giberélico y 6-bencilaminopurina sobre el desarrollo de yemas en injertos de cacao.

Tratamientos	Hormona	Concentración
Testigo	---	---
6BAP 5 mg L ⁻¹	6-bencilaminopurina	5 mg L ⁻¹
6BAP 10 mg L ⁻¹	6-bencilaminopurina	10 mg L ⁻¹
6BAP 15 mg L ⁻¹	6-bencilaminopurina	15 mg L ⁻¹
AG ₃ 5 mg L ⁻¹	Ácido giberélico	5 mg L ⁻¹
AG ₃ 10 mg L ⁻¹	Ácido giberélico	10 mg L ⁻¹
AG ₃ 15 mg L ⁻¹	Ácido giberélico	15 mg L ⁻¹

Antes de aplicar los tratamientos, fueron seleccionadas 60 plántulas de cacao, con la misma edad desde germinación e injertadas en la misma fecha. Los tratamientos fueron aplicados una vez, al inicio del experimento en la hoja del patrón con un atomizador. La aplicación se realizó a las 7 h para evitar las pérdidas de producto por evapotranspiración.

Se seleccionaron cinco plántulas de cada tratamiento que permanecieron durante 30 días después de la aplicación de las hormonas (dda); en estas plántulas se midieron cada 3 d las siguientes variables: número de hojas, diámetro y longitud del injerto. También se midió el largo y ancho de la hoja para luego calcular el área foliar (AF) del injerto mediante la ecuación 1.

$$AF = \text{largo (cm)} \times \text{ancho (cm)} \times 0,75 \quad (1)$$

Al final (30 dda), se midieron la masa fresca y seca de cada una de las cinco plántulas analizadas.

Para el análisis de los datos se usó el *software* SAS® v. 8.1e. (SAS Institute Inc. Cary, NC), se realizó un Anava y la

prueba de promedios de Tukey al 5%, para comparar tratamientos y concentraciones de cada hormona.

Resultados y discusión

Diámetro del injerto

En CCN51 se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos en los dos últimos días del experimento y también diferencias significativas y altamente significativas entre las concentraciones de citoquininas durante la mayoría de los días del experimento; la concentración de 10 mg L⁻¹ mostró los valores más altos (Fig. 1A). ICS95 mostró diferencias altamente significativas el último día de medición (Fig. 1B).

El testigo y el 6BAP en la concentración más baja (5 mg L⁻¹) presentaron los menores diámetros de injerto en CCN51 e ICS95 (Fig. 1A y 1B). La concentración de 10 mg L⁻¹ tanto de giberelinas como de citoquininas fue la mejor al mostrar un aumento constante del diámetro del injerto durante todo el ensayo.

Resultados similares se encontraron en soya (*Glycine max*) en lo que se refiere a los tratamientos con AG₃, pero el efecto de las citoquininas en esta especie es distinto. El tratamiento con 100 mg L⁻¹ de AG₃ aplicado foliarmente a plantas de *G. max* contribuyó al aumento del diámetro del tallo, mientras que el tratamiento con 30 mg L⁻¹ de citoquininas no muestra ningún efecto en el diámetro del tallo (Leite *et al.*, 2003). En *Helianthus annuus* se observó el efecto contrario, la aplicación de Biogib (giberelina) redujo el diámetro tanto del tallo como del peciolo (Silva *et al.*, 2001). Esto corrobora el hecho de que los efectos producidos por las giberelinas están influenciados por los cambios en la concentración de la hormona y la susceptibilidad del tejido vegetal (Ikeda *et al.*, 2001).

Estos resultados sugieren que la aplicación tanto de citoquininas como de giberelinas contribuye de forma indirecta a una mejor nutrición del brote que se está desarrollando en el injerto, ya que el diámetro del peciolo es una característica que puede correlacionarse con el aporte de agua y minerales a la hoja y a la salida de savia elaborada (Silva *et al.*, 2001). Esto podría sugerir, que además del efecto de las hormonas sobre la actividad celular, el aumento en el tamaño de tallos y hojas de los injertos, producto de la aplicación de hormonas, puede estar relacionado con un mejor aporte de nutrientes a estos órganos en comparación con los injertos que se desarrollan sin la aplicación exógena de reguladores de crecimiento.

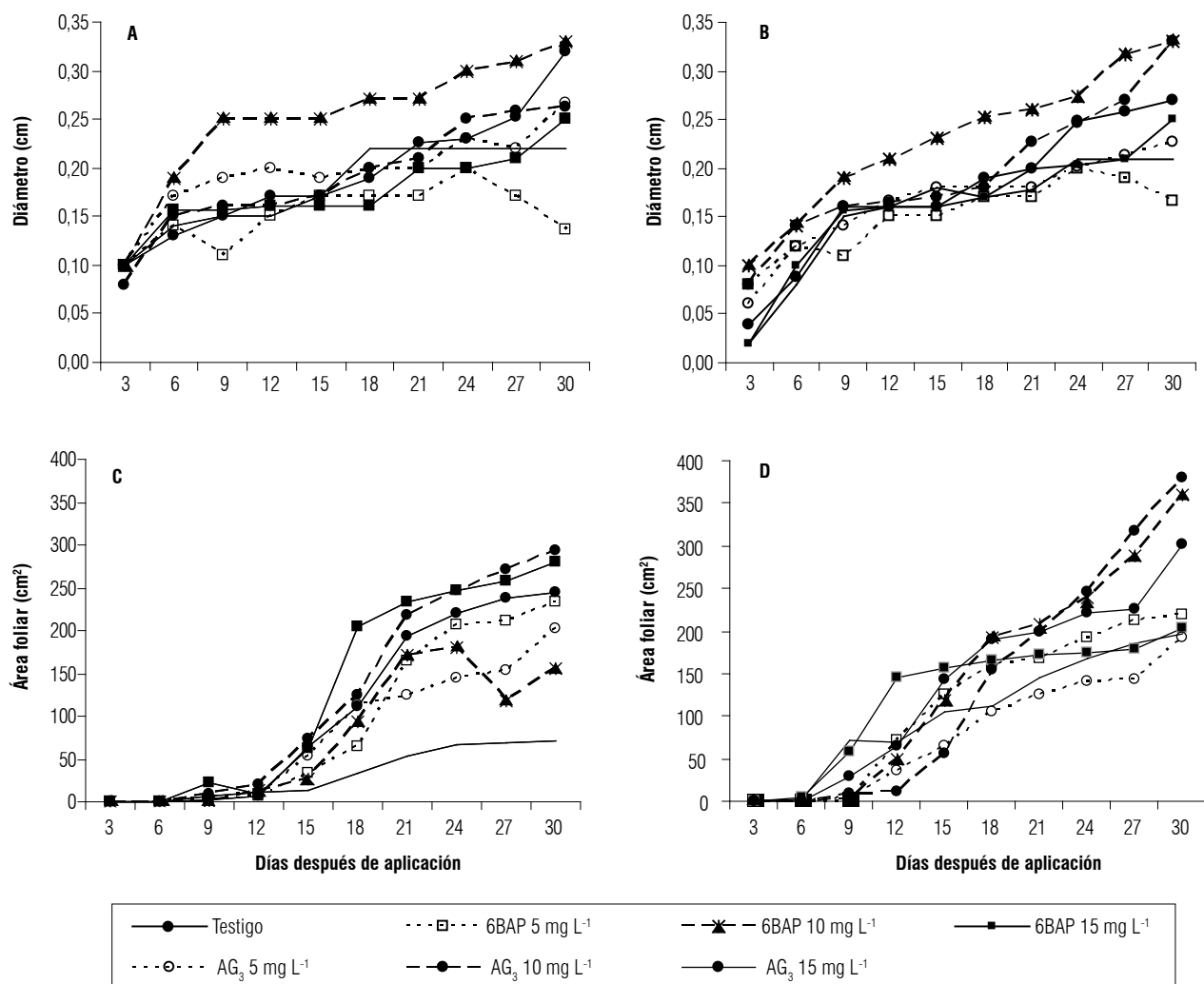


FIGURA 1. Comportamiento del diámetro del injerto (A, B) y el área foliar (C, D) en plántulas del clon IMC67 de cacao injertadas con yemas de los clones CCN51 (A, C) e ICS95 (B, D), sometidas a aplicaciones exógenas de 6BAP y AG₃ a tres diferentes concentraciones (5, 10 y 15 mg L⁻¹).

En general, las giberelinas pueden acortar la interfase del ciclo celular ya que inducen la síntesis de DNA en células que se encuentran en la fase G1. Esto se ve reflejado en un mayor crecimiento de la zona meristemática debido al mayor número de células que entran en división celular con la aplicación de giberelinas (Azcón-Bieto y Talón, 2000; Taiz y Zeiger, 2002).

Longitud del injerto

Entre los tratamientos no hubo diferencias estadísticas para la longitud del injerto para CCN51 como tampoco para ICS95. Las plántulas tratadas con AG₃ a 10 y a 15 mg L⁻¹ y con 6BAP a 10 mg L⁻¹, presentaron los injertos más largos en ambos clones durante la mayor parte del experimento. El testigo mostró injertos más largos que los tratamientos de 6BAP a 5 y a 15 mg L⁻¹ y de AG₃ a 5 mg L⁻¹ (Tab. 2), esta situación puede explicarse probablemente porque el conte-

nido endógeno de estas hormonas es mayor o similar, por lo cual las aplicaciones exógenas no influyeron en la longitud.

Los injertos de ambos clones crecen rápidamente durante los nueve primeros dda, luego el crecimiento desacelera un poco hasta el día 18 cuando tiende a estabilizarse y sigue creciendo muy lentamente hasta el día 30. Este comportamiento es similar en todos los tratamientos con excepción de AG₃ a 10 mg L⁻¹ en el cual los injertos exhiben un crecimiento acelerado casi constante hasta el día 21 cuando tiende a estabilizarse (datos no reportados).

En *G. max* (Leite *et al.*, 2003) y en *Vigna unguiculata* (Emongor, 2007) la aplicación foliar de AG₃ contribuyó a aumentar la longitud de la planta y del primer nudo, mientras que la aplicación de citoquininas no afectó esta variable. Cabe anotar que las plantas de dichos ensayos no fueron cortadas o modificadas en su estructura.

Trabajos previos en injertos de *Persea americana* mostraron que dosis de 250 mg L⁻¹ de BAP en plántulas con desbrote apical lograron un efecto positivo en el incremento porcentual del crecimiento de brotes de púas injertadas, sin embargo esto no ocurrió en plántulas sin desbrote apical (Rodríguez, 2003), lo cual concuerda con lo observado en los injertos CCN51 e ICS95.

En *I. paraguariensis* las aplicaciones de giberelinas AG₁ y AG₄ promovieron significativamente la producción de brotes de más de 5 mm de longitud, comparadas con el control, cuando se emplearon dosis de 5 mg L⁻¹ y entre 1 y 5 mg L⁻¹, respectivamente. Las dosis menores no fueron efectivas (Sansberro *et al.*, 2000). Por otro lado, la aplicación de giberelinas en *Citrus* sp. a diferentes concentraciones incrementó significativamente la longitud del brote respecto al control (Ratna Babu y Lavania, 1985).

Número de hojas del injerto

Ningún clon presentó diferencias estadísticas en el número final de hojas, tampoco se presentaron significancias entre tratamientos, sin embargo, los valores más altos fueron alcanzados con los tratamientos de giberelinas en los dos clones (Tab. 2).

El testigo en ambos clones muestra un comportamiento muy similar a los tratamientos durante las tres primeras semanas, pero después decae hasta alcanzar valores bajos comparados con la mayoría de tratamientos. Ambos clones muestran un aumento acelerado en la producción de hojas durante los nueve primeros días, que luego tiende a estabilizarse entre el día 9 y el día 24. En los últimos días, el número de hojas en el clon CCN51 tiende a permanecer constante en las plántulas tratadas con AG₃, mientras que las plántulas que recibieron 6BAP muestran hojas secas, lo que disminuye el número de las mismas. Por el contrario, el clon ICS95 tiende a aumentar el número de hojas en las plántulas de los tratamientos tanto de giberelinas como de citoquininas, cuando el injerto está por cumplir un mes de crecimiento.

En *Phaseolus vulgaris* (Castro *et al.*, 1990) y en *Vicia faba* (Harb, 1992) se observó un aumento del número de hojas después del tratamiento con AG₃. Sin embargo, los mismos resultados no fueron obtenidos en plantas de *G. max* (Leite *et al.*, 2003) ni en plantas de *Pisum sativum* (Saimbhi *et al.*, 1975). La respuesta a la aplicación exógena de hormonas puede estar relacionada también con las diferentes técnicas y tasas de aplicación (King *et al.*, 2000), o con las características propias del cultivar (Nalawadi *et al.*, 1973).

TABLA 2. Longitud y número de hojas promedio de cada injerto de plántulas de cacao del clon IMC67 injertadas con yemas de los clones CCN51 e ICS95, a los 30 dda de AG₃ y 6BAP.

Clon	Trat	Concentración (mg L ⁻¹)	Longitud del injerto (cm)	Número de hojas	
CCN51	Testigo	0	9,32	2,8	
		5	8,54	2,8	
		10	11,32	2,6	
	6BAP	15	7,98	2,8	
		5	6,98	3,2	
		10	10,70	3,8	
	AG ₃	15	10,80	3,4	
		Testigo	0	9,64	3,2
			5	8,44	4,2
10	10,06		3,8		
ICS95	6BAP	15	8,30	3,0	
		5	6,98	4,0	
		10	10,56	4,4	
	AG ₃	15	10,52	3,8	
		Significancia		NS	NS

NS, no significativo.

Al igual que con AG₃, la aplicación de citoquininas en plantas de *G. max* cultivadas bajo óptimas condiciones no presentó ningún efecto sobre el número de hojas (Leite *et al.*, 2003), mientras que en *V. unguiculata* la aplicación de AG₃ aumenta el número de hojas por planta (Emongor, 2007) tal como ocurre con los injertos de cacao.

Área foliar

A pesar de no presentar diferencias estadísticas entre los tratamientos, el área foliar presentó diferencias entre las concentraciones de cada hormona para los 30 dda en CCN51 y del día 15 al 30 para ICS95. Esta variable presentó los valores más elevados con 10 mg L⁻¹ de 6BAP y con 10 y 15 mg L⁻¹ de AG₃ para ICS95, mientras CCN51 mostró un mejor comportamiento con los tratamientos de 6BAP a 15 mg L⁻¹ y AG₃ a 10 y 15 mg L⁻¹. Los demás tratamientos en cada uno de los clones presentaron comportamientos muy similares a los del testigo (Fig. 1C y 1D).

Los valores bajos de área foliar en el testigo se deben a un alto porcentaje de área foliar marchita en comparación con las hojas de los injertos tratados con giberelinas o citoquininas. Al respecto, Romanko *et al.* (1969) reportan que la aplicación exógena de citoquininas retrasa la senescencia de hojas después de ser separadas del tallo y mantiene los

cloroplastos fotosintéticamente activos por más tiempo. Los cloroplastos contienen enzimas para la biosíntesis de un grupo de citoquininas naturales, incluyendo bases, ribosidos, ribotidos y N-glucósidos (Benkova *et al.*, 1999; Kasahara *et al.*, 2004; Polanska *et al.*, 2007). Sumado a lo anterior, Leite *et al.* (2003) reportan que el tratamiento de *G. max* con 100 mg L⁻¹ de AG₃ promueve el aumento del área foliar de las plantas.

Por otro lado, en *Brassica oleracea* las aplicaciones de AG₃ y Bencilamina individualmente produjeron un aumento tanto del largo como del ancho de las hojas, lo cual se vio reflejado en el aumento del área foliar (Kato y Sooen, 1980).

Masa del injerto

La masa seca del injerto mostró diferencias significativas entre los tratamientos para el caso del clon CCN51, lo cual no ocurre en ICS95 donde los tratamientos fueron similares en masa seca. Para CCN51 el mejor tratamiento fue el de 10 mg L⁻¹ de AG₃ con un promedio de 3,22 g de masa fresca y 1,11 g de masa seca seguido por el tratamiento de 15 mg L⁻¹ de 6BAP con 2,71 g de fresca y 0,97 g de seca. En contraste, el testigo alcanzó 2,01 g de masa fresca y 0,58 g de masa seca, siendo estos los valores más bajos (Fig. 2). Tanto en ICS95 como en CCN51 alcanzaron los valores más altos con el tratamiento de 10 mg L⁻¹ de AG₃ con 3,4 g en fresco y 0,82 g en seco y los valores más bajos fueron con 5 mg L⁻¹ de 6BAP (1 g en fresco y 0,31 g en seco).

Los tratamientos con giberelinas exógenas mostraron ser efectivos al aumentar la masa seca de plantas de *G. max* (Leite *et al.*, 2003) y de *V. unguiculata* (Emongor, 2007), mientras que los tratamientos con citoquininas no mostraron efecto alguno sobre la masa de la primera especie (Leite *et al.*, 2003). El efecto observado en este ensayo con los injertos de cacao está influenciado por el hecho de que las plántulas presentaban desbrote apical lo cual, como ya se mencionó, puede mejorar los efectos causados por la aplicación exógena de citoquininas.

A nivel general, estos resultados apoyan el postulado de que el crecimiento de la yema depende de la proporción hormonal antes que de niveles individuales (Bangerth, 2000; Valdés *et al.*, 2003); el éxito en las variables en ningún caso fue proporcional a la concentración de la hormona aplicada, siendo los valores intermedios los que lograron los mejores resultados y sugiriendo que estos tratamientos son los que proporcionan un mejor balance hormonal para el crecimiento y desarrollo de las yemas de los injertos de cacao.

Las auxinas están implicadas en la regulación de la ramificación. Con las auxinas moviéndose en forma basipétala en el tallo principal, inhiben el crecimiento de las yemas axilares (Napoli *et al.*, 1999). Leyser *et al.* (1993) y Lincoln *et al.* (1990) reportan que el gen AUXIN RESISTANT1 (AXR1), en *Arabidopsis*, confiere un defecto inicial en la transcripción regulada por las auxinas. Las mutaciones en este gen resultaron en un aumento de la ramificación del follaje y la resistencia a las auxinas del meristemo apical (Booker *et al.*, 2003).

Además del papel principal de las auxinas, es claro que este regulador actúa indirectamente, ya que las auxinas no entran en las yemas (Hall y Hillman, 1975; Morris, 1997) y la aplicación de auxinas directamente en las yemas no inhibe el crecimiento de las mismas (Brown *et al.*, 1979). Sumado a esto, la expresión del tipo silvestre de gen AXR1 en el parénquima del xilema y en el tejido interfascicular del tallo es suficiente para restablecer el hábito de brotación propia del tipo silvestre en el mutante AXR1-12. Por lo anterior, las auxinas en el tallo pueden influir en el crecimiento de las yemas, a una determinada distancia (Bennett *et al.*, 2006).

Parece ser que uno de los blancos de la ruta del gen AXR1 incluye genes codificantes para la biosíntesis de citoquininas (Nordstrom *et al.*, 2004), esto puede reducir la disponibilidad de citoquininas en la yema y por lo tanto reducir la actividad de la yema (Bennett *et al.*, 2006). Al respecto, se ha mostrado que las auxinas pueden regular la síntesis y exportación de citoquininas de la raíz (Eköf *et al.*, 1995) y su síntesis local en la parte aérea (Nordstrom *et al.*, 2004), sugiriendo que las auxinas pueden actuar mediante la reducción del suplemento de citoquininas a las yemas y así inhibir su crecimiento (Bennett *et al.*, 2006).

Para el caso de las plántulas de cacao, en el presente ensayo, el corte de las yemas apicales debió reducir el flujo basipétalo de auxinas en el tallo; por ende, la inhibición de esta hormona hubiera podido causar en la producción y el transporte de las citoquininas con un aumento en la brotación de yemas laterales. A pesar de esto, la regulación génica de la producción y actividad de las citoquininas posiblemente se mantuvo lo suficientemente fuerte para mantener bajos los niveles de esta hormona en la yema injertada, insuficientes para generar un crecimiento vigoroso de la misma; esto se ve reflejado en un menor desarrollo de las yemas sin aplicación exógena de citoquininas. Adicionalmente, el hecho de que la aplicación exógena de citoquininas revierta estos procesos y permita un crecimiento más rápido de las yemas sugiere un efecto directo sobre la cinética de crecimiento celular, y efectos indirectos sobre la nutrición.

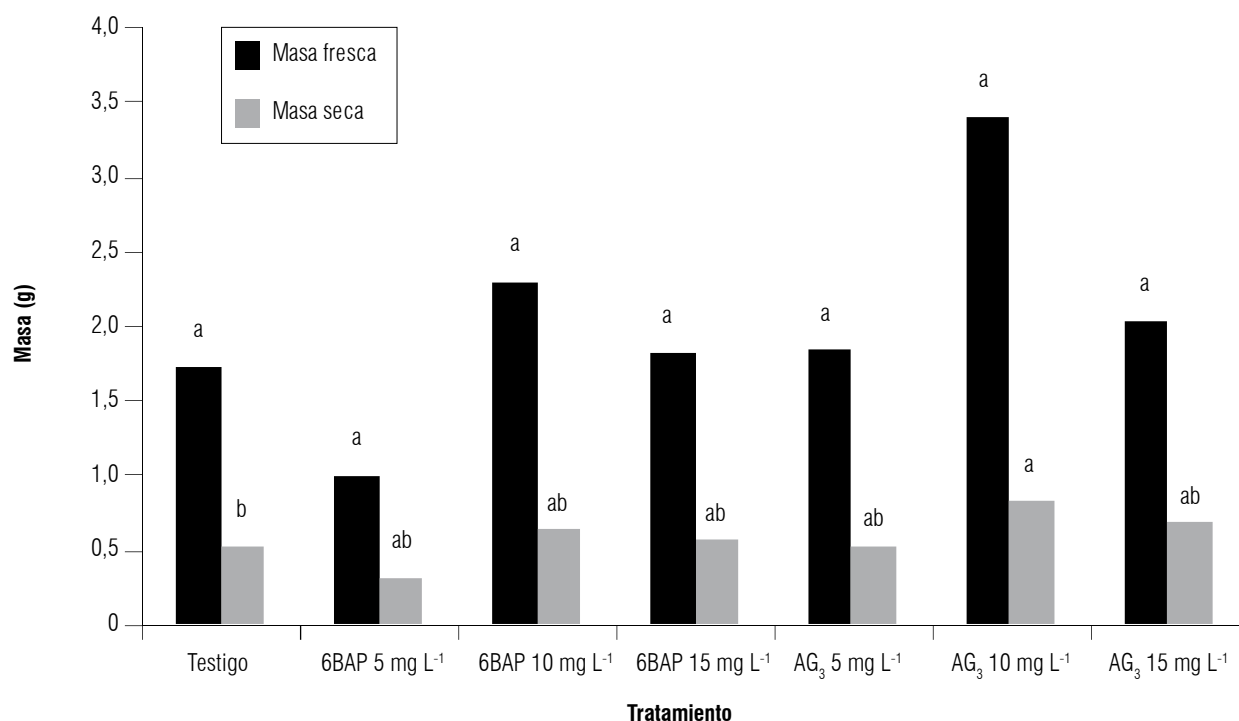


FIGURA 2. Masa fresca y seca final del injerto en plántulas de cacao del clon IMC67 injertadas con yemas de los clones CCN51 y sometidas a aplicaciones exógenas de 6BAP y GA₃. Promedios con letras distintas en la misma serie indican diferencia significativa según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

Esta posible interacción hormonal puede entenderse mejor si se conoce el efecto que tiene el corte de la yema terminal sobre el desarrollo de la yema injertada cuando se aplican reguladores de crecimiento de forma exógena. En este ensayo no se conoce este efecto ya que todas las plantas utilizadas presentaban desbrote apical, lo cual es una práctica generalizada en el centro de investigación de Nataima.

Con respecto a la acción de las giberelinas, se encontró que la aplicación exógena de GA₄₋₇ sobre yemas laterales y terminales de *Pinus sylvestris* no tuvo efecto cualitativo sobre la organización del meristemo apical, pero se observó un incremento en la actividad mitótica del ápice desde el primer día después de la aplicación. A las cuatro semanas de realizada la aplicación se observó un incremento en la longitud y de las dimensiones en general del domo apical (Hejnowicz, 1987).

El aumento observado en el diámetro de las yemas de cacao sugiere un mecanismo similar al ocurrido en *P. sylvestris*, el aumento en el crecimiento de las yemas observado al final del experimento pudo ser el resultado del aumento en la actividad mitótica inducido en un corto periodo después de la aplicación de AG₃.

Conclusiones

La aplicación de la concentración de 10 mg L⁻¹ de 6BAP mejoró el prendimiento de las yemas de cacao en cuanto al diámetro y la longitud del injerto, en tanto que la concentración de 15 mg L⁻¹ promueve el aumento en el número de hojas, el área foliar total y la masa seca y fresca del injerto. La concentración de 10 mg L⁻¹ de AG₃ mostró los mejores resultados en los clones CCN51 e ICS95. Sin la aplicación de hormonas, las yemas del clon ICS95 desarrollan una mayor área foliar y una mayor masa fresca y seca que las yemas del clon CCN51; sin embargo, después de aplicar los tratamientos, los dos clones presentan valores similares. El efecto de la aplicación de 6BAP está influenciado por el hecho de que las plántulas utilizadas no presentaban meristemos apicales, presentando así una menor carga de auxinas.

Literatura citada

- Azcón-Bieto, J. y M. Talón. 2000. Fisiología y bioquímica vegetal. McGraw Hill/Interamericana, Barcelona, España.
- Ballester-Olmos, J.F. 2005. Reguladores del crecimiento para su uso en viveros. En: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Gobierno de España, <http://www.mapa.es>

/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_hortint %5Chortint_2005_E_96_103.pdf; consulta: marzo de 2010.

- Bangerth, F., C.-J. Li y J. Gruber. 2000. Mutual interaction of auxin and cytokinins in regulating correlative dominance. *Plant Growth Regul.* 32, 205-217.
- Benkova, E., E. Witters, W. Van Donger, J. Kolar, V. Motyka, B. Brzobohaty, H.A. Van Onckelen e I. Machaceková. 1999. Cytokinins in tobacco and wheat chloroplasts, occurrence and changes due to light/dark treatment. *Plant Physiol.* 121, 245-251.
- Bennett, T., T. Sieberer, B. Willett, J. Booker, C. Luschnig y O. Leyser. 2006. The *Arabidopsis* MAX pathway controls shoot branching by regulating auxin transport. *Curr. Biol.* 16, 553-563.
- Booker, J.P., S.P. Chatfield y H.M.O. Leyser. 2003. Auxin acts in xylem-associated or medullary cells to mediate apical dominance. *Plant Cell* 15, 495-507.
- Brown, B.T., C. Foster, J.N. Phillips y B.M. Rattigann. 1979. The indirect role of 2,4-D in the maintenance of apical dominance in decapitated sunflower seedlings (*Helianthus annuus* L.). *Planta* 146, 475-480.
- Castro, P.R.C., B. Apezato, C. Lara, A. Pelissari, M. Pereira, M.J. Medina, A.C. Bolonhezi y J.A. Silveira. 1990. Ação de reguladores vegetais no desenvolvimento, aspectos nutricionais, anatômicos e na produtividade do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* cv. Carioca). *Anais da ESALQ* 47, 11-28.
- Chory, J., D. Reinecke, S. Sim, T. Wasburn y M. Brenner. 1994. A role for cytokinins in de-etiolation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 104, 339-347.
- Cline, M. 1994. The role of hormones in apical dominance. New approaches to an old problem in plant development. *Plant Physiol.* 90, 230-237.
- Davies, P.J. 1995. The plant hormones: their nature, occurrence and factors in plant physiology, biochemistry and molecular biology. 2a ed. Kluwer Academic Publishers, Ithaca, NY.
- Emongor, V. 2007. Gibberellic acid influence on vegetative growth, nodulation and yield of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Walp. *J. Agron.* 6(4), 509-517.
- Eköf, S., C. Astot, J. Blackwell, T. Moritz, O. Olsson y G. Sandberg. 1995. Auxin/cytokinin interactions in wild-type and transgenic tobacco. *Plant Cell Physiol.* 38, 225-235.
- Hall, S.M. y J.R. Hillman. 1975. Correlative inhibition of lateral bud growth in *Phaseolus vulgaris* L. timing of bud growth following decapitation. *Planta* 123, 137-143.
- Harb, E.Z. 1992. Effect of soaking seeds in some growth regulators and micronutrients on growth, some chemical constituents and yield of faba bean and cotton plants. *Bull. Fac. Agric., Cairo Univ.* 43, 429-452.
- Hejnowicz, A. 1987. Changes in the development of apical meristem of *Pinus sylvestris* in response to gibberellin application. *For. Ecol. Manage.* 19(1-4), 99-106.
- Ikeda, A., M. Ueguchi-Tanaka, Y. Sonoda, H. Kitano, M. Koshioka, Y. Futsuhara, M. Matsuoka y J. Yamaguchi. 2001. Slender rice, a constitutive gibberellin response mutant, is caused by a null mutation of the SLR1 gene, an ortholog of the height regulating gene AGI/RAG/RHT/D8. *Plant Cell* 13, 999-1010.
- Jiménez, G.E. 1998. Propagación vía organogénesis. Fase 0 o preparativa. Fase I: establecimiento o iniciación de los cultivos. p. 134. En: Curso Internacional de Propagación Masiva in Vitro de Especies Vegetales. Instituto Biotecnología de las Plantas. Santa Clara, Cuba.
- Kasahara, H., K. Takei, N. Ueda, S. Hishiyama, T. Yamaya, Y. Kamiya, S. Yamaguchi y H. Sakakibara. 2004. Distinct isoprenoid origins of cis- and trans-zeatin biosyntheses in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 279, 14040-14054.
- Kato, T. y A. Sooen. 1980. Physiological studies on the head formation in cabbage. III. Role of terminal bud in the head formation posture. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 48(4), 426-434.
- King, R.W., H. Seto y R.M. Sachs. 2000. Response to gibberellin structural variants shows that ability to inhibit flowering correlates with effectiveness for promoting stem elongation of some plant species. *Plant Growth Regul.* 19, 8-14.
- Kulaeva, O.N., E.A. Burhanova, N.N. Karavaiko, S.Y. Selivankina, S.A. Porfirova, G.G. Maslova, Y.V. Zemlyachenko y T. Börner. 2002. Chloroplasts affect the leaf response to cytokinin. *J. Plant Physiol.* 159, 1308-1316.
- Kusnetsov, V.V., R.G. Herrmann, O.N. Kulaeva y R. Oelmüller. 1998. Cytokinin stimulates and abscisic acid inhibits greening of etiolated *Lupinus luteus* cotyledons by effecting the expression of the light-sensitive protochlorophyllide oxidoreductase. *Mol. Gen. Genet.* 259, 21-28.
- Kusnetsov, V.V., M. Landsberger, J. Meurer y R. Oelmüller. 1999. The assembly of the CAAT-box binding complex at a photosynthesis gene promoter is regulated by light, cytokinin, and the stage of the plastids. *J. Biol. Chem.* 274, 36009-36014.
- Kusnetsov, V.V., R. Oelmüller, M. Sarwat, S.A. Porfirova, G.N. Cherepneva, R.G. Herrmann y O.N. Kulaeva. 1994. Cytokinins, abscisic acid and light affect accumulation of chloroplast proteins in *Lupinus luteus* cotyledons, without notable effect on steady-state mRNA levels. *Planta* 194, 318-327.
- Law, D.W. 1987. Gibberellin-enhanced indole-3-acetic acid biosynthesis: D-tryptophan as a precursor of indole-3-acetic acid. *Physiol. Plant.* 70, 626-632.
- Leite, V.M., C.A. Rosolem y J.D. Rodrigues. 2003. Gibberellin and cytokinin effects on soybean growth. *Sci. Agric.* 60(3), 537-541.
- Lerbs, S., W. Lerbs, N.L. Klyachko, E.G. Romanko, O.N. Kulaeva, R. Wollgiehn y B. Parthier. 1984. Gene expression in cytokinin - and light-mediated plastogenesis of *Cucurbita* cotyledons: ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Planta* 162, 289-298.
- Leyser, H.M., C.A. Lincoln, C. Timppte, D. Lammer, J. Turner y M. Estelle. 1993. *Arabidopsis* auxin-resistance gene AXR1 encodes a protein related to ubiquitin-activating enzyme E1. *Nature* 364, 161-164.
- Lincoln, C., J.H. Britton y M. Estelle. 1990. Growth and development of the axr1 mutants of *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2, 1071-1080.
- Morris, D.A. 1977. Transport of exogenous auxin in twobranch dwarf pea seedlings (*Pisum sativum* L.). *Planta* 136, 91-96.
- Nalawadi, U.G., R. Prithvi y K. Krishnamurthy. 1973. Improvement in the seed germination of soybean varieties by pre-soaking treatments. *Indian J. Agric. Sci.* 43, 546-550.
- Napoli, C.A., C.A. Beveridge y K.C. Snowden. 1999. Reevaluating concepts of apical dominance and the control of axillary branching. *Curr. Top. Dev. Biol.* 44, 127-169.

- Nordstrom, A., P. Tarkowski, D. Tarkowska, R. Norbaek, C. Astot, K. Dolezal y G. Sandberg. 2004. Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*: a factor of potential importance for auxin-cytokinin-regulated development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 8039-8044.
- Palencia C., G.E., R. Gómez S., N.H. Díaz A., N. Contreras M. y J.A. Tolosa O. 2006. Rehabilitación de plantaciones de cacao. Corpoica, Estación Experimental La Suiza. Bucaramanga.
- Polanska, L., A. Vicankova, M. Novakova, J. Malbeck, P.I. Dobrev, B. Brzobohaty, R. Vankova e I. Machackova. 2007. Altered cytokinin metabolism affects cytokinin, auxin, and abscisic acid contents in leaves and chloroplasts, and chloroplast ultrastructure in transgenic tobacco. *J. Exp. Bot.* 58, 637-649.
- Ramírez, C.L. 2006. Producción de clones de cacao de calidad para el departamento del Huila. Manual Técnico Cacao 31. C.I. Nataima, Corpoica, El Espinal, Colombia.
- Ratna Babu, G.H.V. y M.L. Lavania. 1985. Vegetative growth and nutritional status as influenced by auxins and gibberellic acid, and their effect on fruit yield in lemon. *Scientia Hort.* 26, 25-33.
- Rease, J. y E. Burst. 1983. Increased yield and suppression of shoot growth and nute populations of d anjou pear trees with nitrogen and paclobutrazol. *HortScience* 18, 212-214
- Rodríguez, A.C. 2003. Implementación de las técnicas de etiolación y acodo y microinjertación en paltos (*Persea americana* Mill.). Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile.
- Romanko, E.G., H.J. Hein, O.N. Kulaeva y A.A. Nichiporovich. 1969. Effect of cytokinin on the physiological activity of chloroplasts. *Progr. Photosynth. Res.* 1, 296-303.
- Saimbhi, M.S., S.K. Arora e I.M. Chhibba. 1975. Influence of seed treatment with 2-chloroethylphosphonic acid, gibberellic acid, ascorbic acid, and simazine on growth and nutrient composition of pea (*Pisum sativum* L.) seedlings. *Plant Soil* 43, 697-699.
- Sansberro, P.A., L.A. Mroginski y R.A. Bottini. 2000. Giberelinas y brotación de la Yerba Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.). En: XI Reunión de Comunicaciones Científicas y Técnicas. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste. En: www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt/2000/5_agrarias/a_pdf/a_044.pdf; consulta: marzo de 2010.
- Silva, M., H. Gámez, F. Zavala, B. Cuevas y M. Rojas. 2001. Efecto de cuatro fitoreguladores comerciales en el desarrollo y rendimiento del girasol. *Ciencia UANL* 4, 69-75.
- Skoog, F. y C.O. Miller. 1965. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. pp. 481-494. En: Bell, E. (ed.). *Molecular and cellular aspects of development*, Harper and Row, New York, NY.
- Taiz, L. y E. Zeiger. 2002. *Plant physiology*. 3a ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Valdés, A.E., M.L. Centeno y B. Fernández. 2003. Changes in the branching pattern of *Pinus radiata* derived from grafting are supported by variations in the hormonal content. *Plant Sci.* 165, 1397-1401.
- Yaronskaya, E., I. Vershilovskaya, Y. Poers, A.E. Alawady, N. Averina y B. Grimm. 2006. Cytokinin effects on tetrapyrrole biosynthesis and photosynthetic activity in barley seedlings. *Planta* 224, 700-709.

