

EL THIDIAZURÓN, LA BROTAÇÃO FLORAL Y LAS DIMENSIONES DEL OVARIO EN CIRUELO JAPONÉS (*Prunus salicina* L.) 'SHIRO'

THIDIAZURON, FLOWER BUDBREAK AND OVARY DIMENSIONS IN JAPANESE PLUM (*Prunus salicina* L.) 'SHIRO'

Horacio Alvarado-Raya¹, Jorge Rodríguez-Alcázar², Guillermo Calderón-Zavala² y Elizabeth Cárdenas-Soriano³

¹Preparatoria Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 56230, Chapingo, Edo. de México. (horacioa@taurus1.chapingo.mx). Especialidad de Postgrado en ²Fruticultura. IREGEP; y en ³Fitopatología. IFIT. Colegio de Postgraduados. 56230, Montecillo, Edo. de México.

RESUMEN

La producción de frutales caducifolios de zonas templadas usualmente requiere de la aplicación de promotores de la brotación cuando se cultivan en lugares con inviernos benignos. Revent® (i.a., Thidiazurón o TDZ 20 %) es un producto citocinínico que estimula la brotación floral, poco tóxico al humano y a la planta. El objetivo de esta investigación fue estudiar la eficiencia de este producto aplicado en ecoletargo de ciruelo japonés (*P. salicina* L.) 'Shiro' en condiciones de invierno moderado, para estimular la brotación, así como su influencia en las dimensiones del ovario. Los árboles fueron tratados con 50, 100 y 200 mg L⁻¹ de TDZ mezclados con 40 mL L⁻¹ de aceite invernal y comparados contra Dormex® (i.a., cianamida de hidrógeno) a 5 mL L⁻¹. Plantas no tratadas se usaron como testigo. Thidiazurón fue tan efectivo como Dormex para adelantar el inicio de la floración y la época de floración plena y para acortar el tiempo entre estas etapas. El TDZ a 100 mg L⁻¹ aumentó significativamente las dimensiones del ovario con respecto al testigo.

Palabras clave: *Prunus salicina*, cianamida de hidrógeno, división celular, floración.

INTRODUCCIÓN

La producción frutícola que se desarrolla en áreas subtropicales de México depende de la utilización de variedades mejoradas de bajo requerimiento de frío o de la aplicación de promotores de floración; de lo contrario, la producción frutícola no es uniforme.

La cianamida de hidrógeno (H₂CN₂) se cataloga como el compuesto químico más potente para promover la brotación (Erez, 1987). La H₂CN₂ es eficiente en durazno [*Prunus persica* (L.) Batsch] (George y Nissen, 1993), pera (*Pyrus pyrifolia*) (Lin *et al.*, 1990) y manzano (*Malus domestica* Borkh.) (Williams y Tax, 1990). Sin embargo, las concentraciones y la época de aplicación más efectivas de este compuesto son también las que ocasionan más problemas de fitotoxicidad (Siller-Cepeda *et al.*, 1992;

ABSTRACT

Temperate zone fruit crops, when grown in mild winter conditions, usually require the application of budbreak promoters. Revent® (a. i., Thidiazuron or TDZ 20 %) is a cytokinin product used for flower bud breaking and has a low toxicity for humans and plants. The purpose of this research was to study the efficiency of this chemical to break the ecodormancy of Japanese plum (*P. salicina* L.) 'Shiro' under mild winter conditions and its effect on ovary dimensions. The trees were treated with 50, 100 and 200 mg L⁻¹ of TDZ mixed with 40 mL L⁻¹ of winter oil. These treatments were tested against Dormex® (a. i., hydrogen cyanamide) at 5 mL L⁻¹. Non-treated plants were used as the control. Thidiazuron was as effective as Dormex in advancing and shortening budbreak. TDZ at 100 mg L⁻¹ significantly increased ovary dimensions as compared with control trees.

Key words: *Prunus salicina*, hydrogen cyanamide, cell division, flowering.

INTRODUCTION

Fruit production in subtropical areas of México depends on the use of improved cultivars which have low chill requirements or the application of flowering promoters; otherwise fruit production would not be uniform.

Hydrogen cyanamide (H₂CN₂) is catalogued as the most potent chemical compound for promoting budbreak (Erez, 1987). H₂CN₂ is efficient in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] (George and Nissen, 1993), pear (*Pyrus pyrifolia*) (Lin *et al.*, 1990) and apple (*Malus domestica* Borkh.) (Williams and Tax, 1990). The most effective concentrations and application timing, however, are also those that cause more plant toxicity problems (Siller-Cepeda *et al.*, 1992; Calderón and Rodríguez, 1996), as well as being toxic for humans. Thus, it is necessary to find budbreak promoters that are as effective as H₂CN₂ but with lower risk of toxicity for man and plants.

Cytokinin 6-benzylamine purine (BA) is efficient in increasing vegetative budbreak in apple (Krisanapook *et al.*, 1990). In *Cornus sericea* L. this hormone is more

Recibido: Noviembre, 1997. Aprobado: Diciembre, 1999.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 34: 321-327. 2000.

Calderón y Rodríguez, 1996), además de ser muy tóxico al humano. Por ello es necesario encontrar promotores de brotación que, sin perder la eficiencia que tiene la H_2CN_2 , presenten menos riesgos de toxicidad para el hombre y para las plantas.

La citocinina 6-benzilamino purina (BA) es eficiente para incrementar la brotación en yemas vegetativas de manzano (Krisanapook *et al.*, 1990). En *Cornus sericea* L. esta hormona es más efectiva que la H_2CN_2 para estimular la brotación de yemas durante el paraletargo (Nee y Fuchigami, 1992). En cacto de pascua [*Rhipsalidopsis gaertneri* (Regel) Moran] 'Crimson Giant', la BA incrementa significativamente el número total de yemas florales por planta y el peso seco de los tejidos florales (Boyle, 1995).

En el mismo contexto, se conoce que el Thidiazurón (N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-ylurea) (TDZ) es un producto químico con actividad citocinínica, capaz de romper el paraletargo en manzano (Wang *et al.*, 1994) y de reducir el número de unidades frío requeridas para lograr la brotación de yemas (Faust *et al.*, 1991). Cuando el TDZ se aplica en verano en condiciones subtropicales al durazno 'Diamante', presenta un efecto igual o superior en el adelanto de floración que la H_2CN_2 (Calderón y Rodríguez, 1996).

El presente trabajo fue sustentado por la hipótesis de que el TDZ es efectivo para estimular la salida del ecoletargo posterior al endoletargo en ciruelo japonés (*Prunus salicina* L.), al alterar la permeabilidad de la membrana celular mediante el incremento en el grado de insaturación de los ácidos grasos en los lípidos y la disminución de la relación esteroides-fosfolípidos en la membrana (Wang *et al.*, 1994), lo que ocasiona un incremento en la relación agua libre-agua estructural en el interior de las células de la yema (Faust *et al.*, 1991); también incrementa el diámetro del ovario y el grosor de la pared del ovario de la yema floral al afectar la división, alargamiento y diferenciación celular (Van Standen y Cook, 1986). Así, este trabajo se hizo con la finalidad de conocer el efecto del TDZ sobre la brotación floral y dimensiones del ovario en ciruelo variedad Shiro.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se estableció en el huerto San José, del Campo Experimental Montecillo del Colegio de Posgraduados, México. Este sitio tiene un clima templado con una temperatura media anual de 15 °C y una precipitación de 574 mm anuales. La acumulación de frío oscila de 200 a 300 unidades frío (UF), entre la primera semana de noviembre y la segunda de febrero (Becerril, 1997; comunicación personal)⁴.

effective than H_2CN_2 for stimulating budbreak during paradormancy (Nee and Fuchigami, 1992). In Easter Cactus [*Rhipsalidopsis gaertneri* (Regel) Moran] 'Crimson Giant', BA significantly increases the total number of flower buds per plant and the dry weight of flower tissues (Boyle, 1995).

In the same context, Thidiazuron (N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-ylurea) (TDZ) is a chemical product with cytokinin activity that is capable of breaking paradormancy in apple (Wang *et al.*, 1994) and of reducing the number of chilling units required to achieve budbreak (Faust *et al.*, 1991). When TDZ is applied on 'Diamante' peach in the summer in subtropical conditions, the effect is equal or superior to H_2CN_2 in advancing flowering (Calderón and Rodríguez, 1996).

This work was done under the hypothesis that TDZ would be effective in stimulating Japanese prune (*Prunus salicina* L.) out of ecodormancy by altering the permeability of the cell membrane through the increase of the degree of insaturation of fatty acids in the lipids and the reduction of the sterol-phospholipids ratio in the membrane (Wang *et al.* 1994), resulting in an increase in the free-structural water ratio inside the bud cells (Faust *et al.*, 1991). Also, it was hypothesized that the diameter of the ovary and the thickness of the ovary wall of the flower bud would increase because TDZ would affect cellular division, lengthening and differentiation (Van Standen and Cook, 1986). In short, this work was done to determine the effect of TDZ on flower budbreak and the dimensions of the ovary of Japanese 'Shiro' plum trees.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was set up in the San José orchard of the Experimental Station at Montecillo, belonging to the Colegio de Posgraduados, México. This site has a temperate climate with a mean annual temperature of 15 °C and annual precipitation of 574 mm. The accumulation of chilling oscillates between 200 and 300 chilling units (CU), accumulating between the first week of November and the second week of February (Becerril, 1997; personal communication)⁴.

Eight-years-old Japanese 'Shiro' plum trees grafted onto *P. cerasifera* E. were used. This cultivar requires 500 CU. The trees were conducted in "ypsilon", the pruning system in which trees are given a 'Y' shape, and planted in north-south rows at distances of 3.5 x 3.5 m.

All of the plants were pruned five to ten days before applying the treatments, more than a third of the length of mixed branches was eliminated and it was made a thinning to detached the branches with spurs. Trees were fertilized in January with 92 g of nitrogen (Urea® was used as nitrogen source) per plant and were not fertilized before leaves fell. Irrigation was done weekly during the dry season.

The experimental design was completely random with three repetitions per treatment; one tree was the experimental unit. Four

⁴ Dr. Enrique Becerril Román. Especialidad de Postgrado en Fruticultura. IREGEP. Colegio de Postgraduados. 56230, Montecillo, Edo. de México.

Se utilizó ciruelo del tipo japonés 'Shiro' injertado sobre ciruelo mirabolano (*P. cerasifera* E.) de ocho años de edad. Esta variedad tiene un requerimiento de 500 UF. Los árboles estuvieron conducidos en "ypsilon", sistema de poda de conducción en forma de Y, y plantados en hileras orientadas norte-sur a distancias de 3.5 x 3.5 m.

Todas las plantas fueron podadas entre 5 y 10 días antes de aplicar los tratamientos; se eliminó más de la tercera parte de la longitud de las ramas mixtas y solo se hizo un raleo de las ramas con espolones. Se fertilizaron en enero con 200 g de urea por planta y sin fertilizar antes de la caída de hojas. Los riegos se hicieron semanalmente durante la época de sequía.

El diseño experimental fue completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento, y un árbol como unidad experimental. Se estudiaron cuatro tratamientos promotores de brotación, tres de ellos consistieron en la aspersión de TDZ en concentraciones de 50, 100 y 200 mg L⁻¹, el otro tratamiento consistió en la aplicación de Dormex a 5 mL L⁻¹; a cada tratamiento se le adicionó 40 mL L⁻¹ de citrolina emulsificada. Un grupo de plantas no tratadas se utilizaron como tratamiento testigo. Dormex es un producto comercial que contiene 49 % de H₂CN₂, por lo que de este químico se aplicaron 2.45 mL L⁻¹ de H₂CN₂.

Los tratamientos se aplicaron el 16 de febrero de 1996 entre 07:00 y 11:00 h, y se repitieron el 9 de febrero de 1997 en el mismo horario. Al momento de la aplicación se habían acumulado 318 UF en 1996 y 311 UF en 1997, de acuerdo con las lecturas del biofenómetro (Omnidata TA 45-P; Japón), es decir, más de 50 % del total requerido. El asperjado fue fino hasta llegar al punto de goteo.

Para determinar el efecto de TDZ sobre la brotación floral se cuantificaron las variables: días a inicio de floración y días a floración plena, después de aplicar tratamientos, y días a floración plena después del inicio de floración. Como inicio de floración se consideró el primer día en que se observó al menos una flor abierta, y como floración plena se consideró 80 % de floración acumulada en cada unidad experimental. Para conocer la influencia de este producto sobre el tamaño de las estructuras florales, se midió el diámetro del ovario (μm) en el momento en que las yemas mostraron los sépalos de color verde entre las escamas (10 a 15 días después de aplicar los tratamientos); esta variable se determinó en forma transversal al eje principal del pistilo, en el tercio inferior del ovario. Debido a que el diámetro del ovario puede estar afectado por el tamaño del óvulo y la cavidad ovárica (lóculo), también se determinó el grosor de la pared del ovario (μm) y el número de células en 100 μm^2 .

El porcentaje de floración se determinó con base en un índice visual de la apariencia de la planta completa, el cual ofrece una mejor apreciación del efecto del tratamiento que si se consideraran sólo ramas o espolones. Al respecto, cabe señalar que en esta especie el número de flores por yema varía de dos a tres, lo que hace impredecible la floración en forma cuantitativa. Por tanto, se consideró como 100 % de floración a la apertura esperada de todas las yemas, en cada una de las plantas estudiadas.

En 1996, por problemas laborales no se pudo registrar la dinámica de brotación después de 28 días de haber aplicado los tratamientos, por lo que el testigo no alcanzó más de 10 % de floración acumulada.

budbreak promoter treatments were tested. Three of these consisted of TDZ aspersión at concentrations of 50, 100 and 200 mg L⁻¹. The other treatment was application of Dormex® at 5 mL L⁻¹. To each treatment, 40 mL L⁻¹ of emulsified mineral oil was added. One group of untreated plants was used as the control. Dormex® is a commercial product containing 49 % H₂CN₂; thus, 2.45 mL L⁻¹ H₂CN₂ was applied.

The treatments were applied on February 16th 1996 between 07:00 and 11:00 h, and they were repeated on February 9th 1997 in the same time schedule. At the time of the application, 318 CU had accumulated in 1996 and 311 CU in 1997, according to the readings of the biophenometer (Omnidata Ta 45-P, Japan), that is, more than 50 % of the required total. Spraying was fine and continued up to drip point.

In order to determine the effect of TDZ on flower budbreak, days to initial flowering and days to complete flowering after applying treatments, and days to complete flowering after initial flowering were the variables quantified. Initial flowering was defined as the first day in which at least one flower was observed to have opened, and full flowering was considered when accumulated flowering was 80 % in each experimental unit. To determine the influence of this product on the size of the flower structures, the diameter of the ovary (mm) was measured when buds showed green sepals amid the scales (10 to 15 days after applying the treatments). This variable was measured perpendicular to the main axis of the pistil, in the lower third of the ovary. Because the diameter of the ovary may be affected by the size of the ovule and the ovarian cavity (locule), the thickness of the ovary wall was also measured (μm) and the number of cells in 100 μm^2 was counted.

The percentage of flowering was determined on the basis of a visual index of the appearance of the whole plant; this offers a better appraisal of the effect of the treatments than if only branches or spurs are considered. It is important to mention that in this species, the number of flowers per bud varies from two to three, a characteristic that makes it difficult to predict flowering quantitatively. Therefore, 100 % flowering was defined as the expected opening of all of the buds for each of the plants under study.

In 1996, because of labor problems, it was not possible to record the dynamics of budbreak later than 28 days after applying the treatments, so that the control did not reach more than 10 % accumulated flowering.

For the variables ovary diameter and thickness of the ovary wall during flower budbreak, the buds were collected when the green color of the calyx was detected among the scales. These were taken from spurs with an east orientation and located in the middle and outside part of the plant. One bud per experimental unit was analyzed. Since each bud contains two flower primordia, each experimental unit is represented by two flowers.

In general, the microtechnique followed for the anatomical variables consisted of fixing in FAA, inclusion in paraffin and safranin-fast green staining (Johansen, 1940). This was modified so that during dehydration and inclusion only one change was made in each step of the automatic tissue processor (Tissue-Tek 4640-b, Japan) of three hours per step. During de-paraffination, the changes in xylene (Baker) were at intervals of three minutes. Immersion of the sections in safranin (Sigma®) was done at room temperature, and exposition to fast green (Sigma®) was 2.5 minutes.

Para las variables diámetro del ovario y grosor de la pared de ovario durante la brotación floral, las yemas se colectaron cuando se detectó el color verde del cáliz entre las escamas: éstas se tomaron de espolones orientados hacia el oriente y ubicados en la parte media y exterior de la planta. Se analizó una yema por unidad experimental, la cual contiene dos primordios florales, de modo que cada unidad experimental está representada por el promedio de dos flores.

En general, la microtecnia seguida para las variables anatómicas consistió de fijación en FAA, inclusión por el método de la parafina y tinción en safranina y verde fijo (Johansen, 1940). Las variantes fueron: durante la deshidratación e inclusión sólo se hizo un cambio en cada paso del procesador automático de tejidos (Tissue-Tek 4640-b; Japón) de tres horas cada uno; durante la desparafinación los cambios en xileno (Baker) fueron de tres minutos; la inmersión de los cortes en safranina (Sigma) se hizo a temperatura ambiente; y la exposición al verde fijo (Sigma) fue de 2.5 minutos.

Para medir el diámetro del ovario y el grosor de la pared del ovario se utilizó un micrómetro ocular y un microscopio óptico (American Optical; EE.UU.) con objetivos de 10X (diámetro del ovario) y 40X (grosor de la pared de ovario). Para determinar el número de células por área ($100 \mu\text{m}^2$) se utilizó una ocular de 40X con rejilla graduada en micrómetros.

Los datos se analizaron con el paquete SAS (1988), mediante análisis de varianza con el procedimiento ANOVA. La comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de Thidiazurón en la brotación floral

La superioridad de las tres concentraciones de TDZ para estimular la floración en el ciruelo 'Shiro' se observó desde los 19 días después de aplicar tratamientos, tanto en 1996 como en 1997 (Figuras 1 y 2). Durante el periodo de floración no hubo diferencias significativas entre los promotores, pero sí entre éstos y el testigo; entre las dosis de TDZ no hubo diferencias significativas ni correlación con el porcentaje de floración acumulada ($r=0.092$; $p=0.55$), aunque fue clara la tendencia de incrementar la floración conforme la dosis aumentó.

En 1996, TDZ y Dormex no adelantaron el inicio de floración con respecto al testigo, pero sí adelantaron ocho días en 1997 (Cuadro 1). Al respecto, las aplicaciones de H_2CN_2 fueron menos eficientes conforme el estado fisiológico de la yema fue más avanzado (Siller-Cepeda *et al.*, 1992); en el presente trabajo, los tratamientos se aplicaron 17 días antes de floración regular (AFR) en 1996 y 24 días AFR en 1997, lo que indica que en 1996 había un estado fisiológico de la yema más avanzado al momento de la aplicación. Sería interesante conocer la eficiencia de TDZ en relación con la fecha de aplicación y el estado fisiológico de la yema.

Según Faust *et al.* (1991), el TDZ fue eficiente para romper endoletargo en manzano 'Anna' de 400 UF, si se

To measure ovary diameter and wall thickness, an ocular micrometer and an optic microscope (American Optical, USA) with magnification of 10X (ovary diameter) and 40X (ovary wall thickness) were used. To determine the number of cells per area ($100 \mu\text{m}^2$) an 40X eyepiece with a micrometric grid was used.

Data were analyzed with the statistics package SAS (1988), running an analysis of variance (ANOVA). The comparison of means was done with the Tukey test ($\alpha=0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of thidiazuron on flower budbreak

The superiority of the three concentrations of TDZ to stimulate flower budbreak in 'Shiro' plum was observed as early as day 19 after treatment application, both in 1996 and in 1997 (Figures 1 and 2). During the flowering period, there were no significant differences among the promoters, but a significant difference did exist between these treatments and the control. There were no significant differences among the concentrations of TDZ, nor did these correlate with the percentage of accumulated flowering ($r=0.092$; $p=0.55$), although there was a clear trend for flowering to increase as the concentrations rose.

In 1996, TDZ and Dormex® did not promote earlier initial flowering, compared with the control, but in 1997 initial flowering was eight days earlier (Table 1). Applications of H_2CN_2 are less effective as the physiological state of the bud advances (Siller-Cepeda *et al.*, 1992). In this study, the treatments were applied 17 days before normal flowering (BNF) in 1996, and 24 days BNF in 1997; so that in 1996 the physiological state of the bud was more advanced at the time treatments were applied. It would be interesting to study the efficiency of TDZ relative to date of application and physiological state of the bud.

According to Faust *et al.* (1991), TDZ was effective in breaking endodormancy in 'Anna' apple trees, which require 400 CU, when it is applied after more than 50 % of the total chilling required for normal flowering is accumulated. The Japanese 'Shiro' plum need approximately 500 CU, but the applications done in this study reduced this requirement to 318 and 311 CU in the two years, respectively, more than 50 % of that required.

The difference in time needed for initial flowering remained constant until full flowering in 1997. TDZ and Dormex® cut the time between treatment application and this stage in half, compared with the control. There were no significant differences between the two promoters (Table 2).

In 1996, there was no follow up on the dynamics of flower budbreak as far as full flowering on the control, but the budbreak with different concentrations of TDZ in that year was similar to that for 1997. The flower budbreak

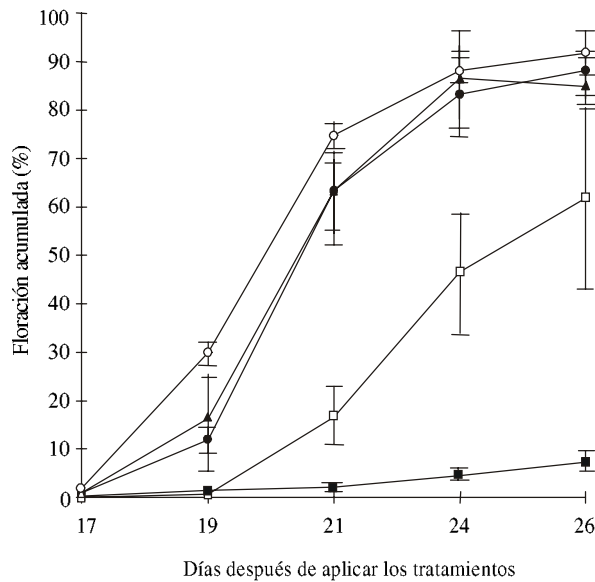


Figura 1. Porcentaje de floración acumulada en plantas de ciruelo 'Shiro' tratadas con 0 (■), 50 (●), 100 (▲) y 200 (○) mg L⁻¹ de TDZ, y 5 mL L⁻¹ de Dormex (□). Tratamientos aplicados el 16 de febrero de 1996. Los datos representan la media de tres valores y el error estándar.

Figure 1. Percentage of accumulated flowering in plants of Japanese plum 'Shiro' treated with 0 (■), 50 (●), 100 (▲) and 200 (○) mg L⁻¹ of TDZ, and 5 mL L⁻¹ of Dormex® (□). Treatments applied on February 16th 1996. Data represent the mean of three values and the standard error.

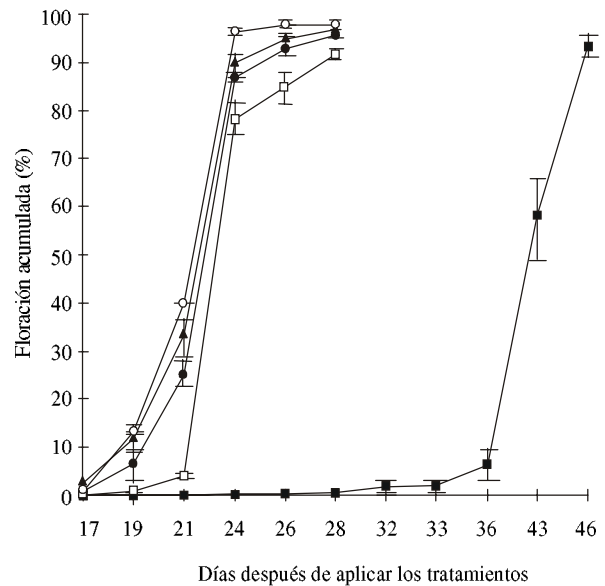


Figura 2. Porcentaje de floración acumulada en plantas de ciruelo 'Shiro' tratadas con 0 (■), 50 (●), 100 (▲) y 200 (○) mg L⁻¹ de TDZ, y 5 mL L⁻¹ de Dormex (□). Tratamientos aplicados el 9 de febrero de 1997. Los datos representan la media de tres valores y el error estándar.

Figure 2. Percentage of accumulated flowering in plants of Japanese plum 'Shiro' treated with 0 (■), 50 (●), 100 (▲) and 200 (○) mg L⁻¹ of TDZ, and 5 mL L⁻¹ of Dormex® (□). Treatments applied on February 9th 1997. Data represent the mean of three values and the standard error.

Cuadro 1. Días a inicio[†] de floración después de aplicar tratamientos estimulantes de brotación en ciruelo japonés 'Shiro' en dos años de producción.

Table 1. Days to flower initiation[†] after application of budbreak stimulant treatments in Japanese plum 'Shiro' in two years of production.

Tratamiento	1996	1997
Testigo	17.7 ab	27.3 a
Dormex, 5 mL L ⁻¹	19.0 a	19.0 b
TDZ, 50 mg L ⁻¹	17.0 b	17.0 b
TDZ, 100 mg L ⁻¹	17.0 b	17.0 b
TDZ, 200 mg L ⁻¹	17.0 b	17.0 b
Desviación estándar	0.52	1.86
CV (%)	2.9	9.6

Datos con la misma letra en una columna no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

[†] Días después de la aplicación de tratamientos, en que se registró por primera vez al menos una flor abierta en la planta / Days after the application of treatments when for the first time at least one opened blossom on the plant was recorded.

aplica después de acumular más de 50 % del total del frío requerido para florecer normalmente. El ciruelo japonés 'Shiro' necesitó aproximadamente 500 UF, y las aplicaciones que aquí se hicieron fueron a 318 y 311 UF en los dos años de estudio, más de 50 % del requerido.

performance of the control plants up to 28 days after applying the treatments was also very similar (Figures 1 and 2). It can be inferred from this that TDZ also caused early full flowering, compared with the control. In grapevines, the application of H₂CN₂ reduced the budbreak period by 62 % relative to non-treated plants (Reddy and Shikhamany, 1989), and in peach it was reduced in 70 % compared with non-treated plants (George and Nissen, 1993). Although there are no exact data available of how much this period is reduced in plum with the application of budbreak promoters, in Table 2 it can be seen that TDZ also concentrates flowering in terms of time.

Through visual appraisal of vegetative budbreak, it was observed that with Dormex® this appeared at the same time or before flower budbreak, and with TDZ at 50 and 100 mg L⁻¹ it was five days earlier. TDZ at 200 mg L⁻¹ had an effect similar to that of Dormex®.

Effect of Thidiazuron on ovary diameter and thickness of ovary wall

These variables were analyzed only in 1996 when significant differences were detected in the ovary due to the effect of the treatments. A similar tendency was noted for the ovary wall, but it was not significant (Table 3). There was, however, a high correlation between these two

La diferencia de tiempo en el inicio de floración se mantuvo hasta la brotación plena en 1997; TDZ y Dormex acortaron casi a la mitad el tiempo comprendido entre la aplicación de tratamientos y esta etapa, en comparación con el testigo, aunque no hubo diferencias significativas entre estos dos promotores (Cuadro 2).

En 1996 no se dio seguimiento a la dinámica de brotación floral hasta la floración plena del testigo, pero la brotación con las diferentes concentraciones de TDZ en este año fueron semejantes a las de 1997, y el comportamiento de la brotación floral de las plantas testigo hasta 28 días después de aplicar los tratamientos también fue muy parecida (Figuras 1 y 2); esto permite inferir que TDZ también adelantó la floración plena con respecto al testigo. En vid, la aplicación de H_2CN_2 redujo hasta en 62 % el periodo de brotación de yema en relación con las plantas no tratadas (Reddy y Shikhamany, 1989), y en durazno se logró reducir el periodo de floración hasta en 70 %, también en comparación con plantas no tratadas (George y Nissen, 1993). Aunque no se tienen datos exactos de cuánto se reduce este periodo en ciruelo al aplicar promotores de brotación, en el Cuadro 2 se observa que el TDZ también hace más concentrada la floración.

Mediante una apreciación visual de la brotación vegetativa, se observó que con Dormex ésta se presentó a la par o adelantada a la brotación floral y cinco días antes que con TDZ 50 y 100 mg L⁻¹; la dosis de TDZ 200 mg L⁻¹ tuvo un efecto similar al de Dormex.

Efecto de Thidiazurón sobre el diámetro del ovario y el grosor de la pared del ovario

Estas variables se analizaron sólo en 1996, en donde se detectaron diferencias significativas en el diámetro de ovario por efecto de los tratamientos; en el grosor de la pared del ovario se notaron tendencias similares, pero no significativas (Cuadro 3); de hecho, hubo una alta correlación entre estas dos variables ($r=0.92$; $p=0.0001$). Las plantas testigo tuvieron las mayores dimensiones del ovario, con excepción de las plantas tratadas con TDZ a 100 mg L⁻¹.

Compuestos citocinínicos como N-phenyl-N'(4-pyridyl)urea (4-PU) o N(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea (CPPU) pueden incrementar el tamaño de fruto en uva, manzana, pera y kiwi (*Actinidia deliciosa* var. *deliciosa*) (Ogata *et al.*, 1989; Díaz y Maldonado, 1991); estos productos se aplican entre 2 y 30 días después de la floración plena y se mezclan con giberelinas. En este trabajo, TDZ se aplicó solo y 17 días antes del inicio de floración.

Por la actividad citocinínica que tiene TDZ y debido a que la división celular en los pistilos de los frutales con hueso empieza desde que aparece el primordio de carpelo, y termina dos a cuatro semanas después de la anthesis (Ryugo, 1993), se esperaría que este producto indujera

Cuadro 2. Días[†] a floración plena (80 %) después de aplicar tratamientos (DDAT) y después del inicio[‡] de floración (DDIF), en ciruelo 'Shiro' sometido a tratamientos estimulantes de brotación en dos años de producción.

Table 2. Days[†] to full flowering (80 %) after the application of treatments (DDAT) and after flowering initiation[‡] (DDIF) in Japanese plum 'Shiro' subjected to treatments of budbreak stimulants during two years of production.

Tratamiento	DDAT		DDIF	
	1996	1997	1996	1997
Testigo	§	46.0a	§	18.7a
Dormex, 5 mL L ⁻¹	Φ	24.7b	Φ	5.7b
TDZ, 50 mg L ⁻¹	23.7	24.0b	7.7	7.0b
TDZ, 100 mg L ⁻¹	23.0	24.0b	5.3	7.0b
TDZ, 200 mg L ⁻¹	23.0	24.0b	6.0	7.0b
Desviación estándar	††	0.516	††	1.93
CV (%)		1.8		21.3

Datos con la misma letra en una columna no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

[†] Días en que se registró por primera vez 80 % de floración o más / Days at which for the first time 80% flowering or more was recorded.

[‡] Días en que se registraron por primera vez flores abiertas en el árbol / Days at which for the first time opened flowers were recorded on the tree.

§ No se llegó a observar floración plena / Full flowering was not observed.

Φ Sólo se observó floración plena en una repetición / Full flowering was observed only in a replication.

†† No se efectuó el análisis de varianza / Analysis of variance was not done.

variables ($r=0.92$; $p=0.0001$). The control plants had ovaries of the largest dimensions, with the exception of plants treated with TDZ at 100 mg L⁻¹.

Cytokinin compounds such as N-phenyl-N'(4-pyridyl)urea(4-PU) or N(2-chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea (CPPU) may increase fruit size in grape, apple, pear and kiwi fruit (*Actinidia deliciosa* var. *deliciosa*) (Ogata *et al.*, 1989; Díaz and Maldonado, 1991). These products are applied between two and 30 days after full flowering and are mixed with gibberellins. In this work, TDZ alone was applied 17 days before initial flowering.

Because of the cytokinin activity of TDZ and because the process of cell division in the pistils of pit fruit trees begins when the carpel primordium appears and it ends two to four weeks after anthesis (Ryugo, 1992), it would be expected that this product would have induced a higher rate of cell division in the bud ovaries. However, the number of cells per area in the ovary wall was not significantly different, except for the plants treated with TDZ at 100 mg L⁻¹ (Table 3). It can be inferred then that only the treatment of TDZ at 100 mg L⁻¹ promoted cell division in the ovary wall. Nevertheless, Van Standen and Cook (1986) state that in developing fruit the highest levels of cytokinins occurs not in the initial phase of cell division, but in the initial phase of fruit lengthening. Thus,

Cuadro 3. Dimensiones del ovario en yemas[†] de ciruelo 'Shiro' después de 10 días de aplicar tratamientos estimulantes de brotación.

Table 3. Dimensions of the ovary in buds[†] of Japanese plum 'Shiro' 10 days after the application of budbreak stimulant treatments.

Tratamiento	Diámetro del ovario(μm)	Grosor de la pared del ovario(μm)	Células/100 μm^2
Testigo	786.7 ab	165.3 a	10.0 ab
Dormex, 5 mL L ⁻¹	655.0 b	148.4 a	9.0 b
TDZ, 50 mg L ⁻¹	646.7 b	151.9 a	8.7 b
TDZ, 100 mg L ⁻¹	875.0 a	186.7 a	12.5 a
TDZ, 200 mg L ⁻¹	718.3 b	169.0 a	10.8 ab
Desviación estándar	64.88	14.31	0.91
CV (%)	8.8	8.7	8.9

Datos con la misma letra en una columna no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

[†] Todas las yemas se tomaron cuando empezaron a mostrar el color del cáliz entre las escamas / All of the buds were taken when they began to show the color of the calyx amid the scales.

una mayor tasa de división celular en el ovario de las yemas. Sin embargo, el número de células por área en la pared del ovario no fue significativamente diferente, excepto en las plantas tratadas con TDZ a 100 mg L⁻¹ (Cuadro 3). De lo anterior se infiere que solamente el tratamiento de TDZ a 100 mg L⁻¹ promovió la división celular en la pared del ovario. No obstante, Van Standen y Cook (1986) indican que en los frutos en desarrollo, los mayores niveles de citocininas no ocurren en la fase inicial de división celular, sino en la fase inicial de alargamiento de fruto. Por tanto, las citocininas pueden ser también importantes durante el alargamiento celular en el desarrollo de frutos.

CONCLUSIONES

El Thidiazurón (TDZ), en las tres concentraciones (50, 100 y 200 mg L⁻¹), fue tan efectivo como Dormex (5 mL L⁻¹) para adelantar el inicio de la floración, la época de floración plena y acortar el tiempo entre estas etapas; por tanto, el TDZ se puede usar como estimulante de la brotación floral en ciruelo 'Shiro'. Con la dosis de 100 mg L⁻¹, la aspersión de TDZ aumentó el diámetro de ovario y el grosor de la pared del ovario en la yema floral en brotación, en comparación con los demás tratamientos.

LITERATURA CITADA

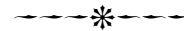
- Boyle, H. T. 1995. BA influences flowering and dry-matter partitioning in shoots of 'Crimson Giant' easter cactus. *HortScience* 30: 289-291.
- Calderón Z., G. y J. Rodríguez A. 1996. Revent (i.a. Thidiazurón o TDZ), un nuevo estimulador de la brotación para durazno. In: Memorias XVI Congreso de Fitogenética. Sahagún C., J., P. Ramírez V. y F. Castillo G. (comps.). 6 a 11 de octubre de 1996.

the cytokinins can also be important during cell lengthening in fruit development.

CONCLUSIONS

Thidiazuron (TDZ) at the three concentrations (50, 100 and 200 mg L⁻¹) was as effective as Dormex® (5 mL L⁻¹) in early initiation of flowering and full flowering period, and in shortening the time between these stages. Thus, TDZ can be used as a stimulant for flower budbreak in 'Shiro' plum. With the concentration of 100 mg L⁻¹, spraying TDZ increased the ovary diameter and the thickness of the ovary wall in the flower bud as compared with the other treatments.

—End of the English version—



- Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. p. 89.
- Díaz, D. H. and L. A. Maldonado. 1991. CPPU effects on berry size and maturity of table grapes. *HortScience* 26: 684.
- Erez, A. 1987. Chemical control of budbreak. *HortScience* 22: 1240-1243.
- Faust, M., D. Liu, M. M. Millard, and G. W. Stutte. 1991. Bound versus free water in dormant apple buds-A theory for endodormancy. *HortScience* 26: 887-890.
- George, A. P., and R. J. Nissen. 1993. Effects of growth regulants on defoliation, flowering, and fruit maturity of the low chill peach cultivar Flordaprince in subtropical Australia. *Austr. J. Exp. Agric.* 33: 787-795.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill. New York and London. 503 p.
- Krisanapook, K., R. Ogata, and S. Subhadarabandu. 1990. Study on some cultural practices to induce lateral bud emergence in apple trees grown under warm conditions. *Acta Hort.* 279: 275-282.
- Lin, H. S., C. H. Lin, and W. J. Liaw. 1990. Production of oriental pear at low latitudes. *Acta Hort.* 279: 75-82.
- Nee, C. C., and L. H. Fuchigami. 1992. Overcoming rest at different growth stages with hydrogen cyanamide. *Scientia Hort.* 50: 107-113.
- Ogata, R., T. Saito, and K. Oshima. 1989. Effect of N-phenyl-N'-(4-pyridyl)urea (4-PU) on fruit size: apple, japanese pear, grapevine and kiwi fruit. *Acta Hort.* 239: 395-398.
- Reddy, N. N., and S. D. Shikhamany. 1989. Effect of hydrogen cyanamide and thiourea on budbreak and bloom of Thompson Seedless grapevines under tropical conditions. *Crop Res. Hisar* 2: 163-168.
- Ryugo, K. 1993. *Fruticultura. Ciencia y Arte*. Rodríguez A., J. (trad.). AGT Ed. México. 460 p.
- SAS Institute. 1988. *SAS/ETS User's Guide*. Release 6.03. SAS Institute. Cary, N.C. USA. 559 p.
- Siller-Cepeda, J. H., L. H. Fuchigami, and T. H. H. Chen. 1992. Hydrogen cyanamide-induced budbreak and phytotoxicity in 'Redhaven' peach buds. *HortScience* 27: 874-876.
- Van Standen, J., and E. L. Cook. 1986. Cytokinins and fruit production. *Acta Hort.* 179: 73-81.
- Wang, S. Y., M. Faust, and M. J. Line. 1994. Apical dominance in apple (*Malus domestica* Borkh): The possible role of Indole-3-Acetic Acid (IAA). *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119: 1215-1221.
- Williams, W. T., and B. A. Tax T. 1990. Preliminary observations on the effects of hydrogen cyanamide on breaking dormancy and harvest of apples in Guatemala. *Acta Hort.* 279: 399-408.