



*Enseñar la explotación de la
tierra, no la del hombre.*

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO



DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

**FLORACIÓN DE AZALEA (*Rhododendron simsii* Planch) EN RESPUESTA
A BAJAS TEMPERATURAS, TIDIAZURÓN Y APLICACIÓN FOLIAR DE
NITRATO DE POTASIO**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

PRESENTA:

MARCELO GARRIDO TORRES

Chapingo, Estado de México, Junio de 2011



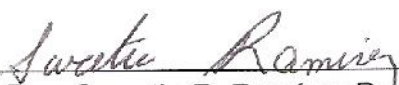
Instituto de Horticultura

**FLORACIÓN DE AZALEA (*Rhododendron simsii* Planch) EN RESPUESTA
A BAJAS TEMPERATURAS, TIDIAZURÓN Y APLICACIÓN FOLIAR DE
NITRATO DE POTASIO**

Tesis elaborada por **Marcelo Garrido Torres** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR _____


Dra. Sweetia P. Ramírez Ramírez

ASESOR _____


Dr. Alejandro F. Barrientos Priego

ASESOR _____


Dra. María Teresa Colinas León

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para lograr este grado académico.

A la Universidad Autónoma Chapingo, en especial al Departamento de Fitotecnia por brindarme la oportunidad de continuar con mi preparación académica y así cumplir una meta más en mi vida profesional.

A los Doctores Sweetia P. Ramírez Ramírez, Alejandro F. Barrientos Priego, María Teresa Colinas León y Tito Roque Vázquez Rojas, gracias por el tiempo que le dedicaron y las sugerencias realizadas a la presente.

A la Dra. Amparo Borja y M. C. Silvia García Díaz por el apoyo brindado en la realización de esta investigación.

A todos mis maestros, que contribuyeron a mi formación profesional.

A todos aquellos que de forma directa o indirectamente han contribuido para la realización de este estudio.

DATOS BIOGRÁFICOS

El autor de este trabajo es originario de Monte Grande, Xicotepec de Juárez, Puebla, nació el 24 de septiembre de 1984. La educación media superior la realizó en el Departamento de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo durante los años 1999-2002.

En esta misma unidad académica curso sus estudios de licenciatura, obteniendo el título de Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia (2006). Ha participado en diferentes cursos y simposios relacionados con la agronomía. En lo referente a su vida profesional tiene experiencia laboral en gobierno y empresas privadas.

En 2009 inicia los estudios de Maestría en Horticultura en el Instituto de Horticultura del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo.

DEDICATORIA

A mis padres Braulio Garrido Sevilla y Ma. Félix Torres Bartolo por darme derecho a la vida y mediante su apoyo y grandes sacrificios han logrado mi formación como profesionista y a quienes les debo todos mis triunfos. Los quiero mucho.

A mis hermanos Braulio y Alejandro por ser tan importantes y compartir grandes momentos en la vida. A mi hermana Soledad por brindarme su comprensión y apoyo siempre alentándome a seguir adelante. Por los ánimos que siempre me dan para lograr mis objetivos, gracias, los quiero mucho.

A mis amigos Cecy, José Manuel, Marcela, Cele, Carmen y Lupita gracias por los momentos que compartimos durante todo este tiempo, mi más sincero aprecio.

A mis amigos y compañeros Juan Aguilar, Miguel Angel Rosas, Cuauthemoc, Abigail y Miguel Angel.

A mis amigos Julio, Campos y Ayala de SINAREFI por su apoyo y confianza.

A todos aquellos que de una u otra forma han contribuido en mi vida tanto personal como profesional.

FLORACIÓN DE AZALEA (*Rhododendron sims* Planch) EN RESPUESTA A BAJAS TEMPERATURAS, TIDIAZURÓN Y APLICACIÓN FOLIAR DE NITRATO DE POTASIO

RESUMEN

La investigación se realizó en dos fases, la primera en el Laboratorio de Fisiología de Frutales de Fitotecnia y la segunda en un invernadero del Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, se evaluaron tres factores con dos niveles cada uno: temperatura (10 y 13 °C), tidiazurón (50 y 100 mg·l⁻¹), nitrato de potasio (2 y 4 %) y un testigo, con la finalidad de conocer el efecto que producen en la floración de azalea cv. Estrella. Durante el periodo de evaluación se observó un incremento del número de brotes secundarios y terciarios, siendo mayor el tratamiento 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % con 46.12 y 29.2 brotes respectivamente. El número de botones florales fue menor en tratamientos que en el testigo. El tratamiento con mayor número de flores fue 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % con 3.8 flores contra el testigo que no presentó floración, durante el periodo de evaluación. Se observó que en el tratamiento 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 % la aparición de la primera flor fue a los 79.6 días, mostrando un adelanto de 45.4 días respecto al testigo. Finalmente se identificaron ocho estados de acuerdo al desarrollo morfológico evidente, desde la iniciación hasta la apertura del botón floral. Se concluye que la temperatura produce un retraso en el proceso de floración, mientras que tidiazurón promueve la diferenciación floral y nitrato de potasio promueve la brotación de botones florales.

Palabras clave:

Anatomía de floración, citocininas, diferenciación floral, promoción de floración

AZALEA (*Rhododendron sims* Planch) FLOWERING IN RESPONSE TO LOW TEMPERATURES, THIDIAZURON AND FOLIAR APPLICATION OF POTASSIUM NITRATE

ABSTRACT

The research was conducted in two phases, the first in the Plant Science Fruit Tree Physiology Laboratory and the second in a greenhouse at the Agricultural Experiment Station of the Universidad Autónoma Chapingo. Three factors with two levels each were evaluated: temperature (10 and 13 °C), thidiazuron (50 and 100 mg·l⁻¹) and potassium nitrate (2 and 4%) and a control, in order to determine the effect they have on azaleas cv. Star flowering. During the evaluation period an increase was observed in the number of secondary and tertiary shoots, with the best treatment being 10° C + 100 mg·l⁻¹ TDZ + 2 % potassium nitrate with 46.12 and 29.2 shoots respectively. The number of flower buds was lower in the treated plants than in the control. The treatment with the highest number of flowers was 10 °C + 50 mg·l⁻¹ TDZ + 2% potassium nitrate with 3.8 flowers; by comparison, the control had no flowering, during the evaluation period. With the treatment 13 °C + 50 mg·l⁻¹ TDZ + 4 % potassium nitrate, the first flower appeared at 79.6 days, showing an advance of 45.4 days compared with the control. Finally, eight stages according to obvious morphological development were identified, from the initiation until the opening of flower buds. In conclusion, temperature produces a delay in the flowering process, while thidiazuron promotes floral differentiation and potassium nitrate promotes sprouting of flower buds.

Key words:

Anatomy of flowering, cytokinins, floral differentiation, promotion of flowering

CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS.....	4
III. REVISION DE LITERATURA.....	5
3.1 FLORACIÓN	5
3.2 INDUCCIÓN Y DIFERENCIACIÓN FLORAL	6
3.3 FACTORES QUE AFECTAN LA FLORACIÓN.....	7
3.3.1 <i>Factores ambientales</i>	9
3.3.1.1 Luz y fotoperiodo.....	9
3.3.1.2 Agua.....	10
3.3.1.3 Temperatura.....	11
3.3.2. <i>Factores genéticos</i>	12
3.3.3. <i>Factores hormonales</i>	14
3.3.3.1. Giberelinas	14
3.3.3.2. Auxinas	16
3.3.3.3 Citocininas.....	17
3.3.3.4 Ácido abscísico	19
3.3.4 <i>Factores nutrimentales</i>	19
3.3.5 <i>El control multifactorial en la inducción floral</i>	21

3.4 ANATOMÍA DE LA DIFERENCIACIÓN FLORAL	22
3.5 NITRATO DE POTASIO COMO ESTIMULANTE DE FLORACIÓN.....	24
3.6 ACTIVIDAD COMO CITOCININA DEL TIDIAZURÓN	25
3.7 PROMOCIÓN DE BROTAÇÃO CON TIDIAZURÓN	25
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	27
4.1 LOCALIZACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DEL SITIO EXPERIMENTAL...	27
4.2 MATERIAL VEGETAL.....	27
4.3 DESCRIPCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	28
4.3.1 Manejo de las plantas durante el experimento	28
4.3.2 Tratamientos	29
4.3.3 Aplicación de Tratamientos	30
4.4 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	30
4.5 VARIABLES RESPUESTA EVALUADAS	31
4.5.1 Altura de planta.	31
4.5.2 Número de brotes.....	31
4.5.3 Comportamiento de la floración.....	31
4.5.4 Días a la aparición de la primera flor.	32
4.5.5 Diámetro de flor.....	32
4.5.6 Proceso de diferenciación floral.	32
4.6 MUESTRAS PARA HISTOLOGIA.....	32
4.7 CORTES DE MERISTEMO APICAL	32

4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	33
V. RESULTADOS Y DISCUSION	34
5.1 ALTURA DE PLANTA	34
5.2 NÚMERO DE BROTES.....	38
5.3 COMPORTAMIENTO DE LA FLORACIÓN.....	42
5.4 DÍAS A LA APARICIÓN DE LA PRIMERA FLOR	50
5.5 DIÁMETRO DE FLOR.....	52
5.6 PROCESO DE DIFERENCIACIÓN FLORAL	56
VI. CONCLUSIONES.....	60
VII. LITERATURA CITADA.....	61
VIII. ANEXOS.....	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Productos para prevención y control de plagas y enfermedades en azalea cv. Estrella	29
Cuadro 2. Comparación de medias de altura de planta (cm) en azalea ‘Estrella’ con diferentes tratamientos estimulantes de floración.....	34
Cuadro 3. Comparación de medias del número de brotes por planta acumulados en azalea ‘Estrella’ con diferentes tratamientos estimulantes de floración.	39
Cuadro 4. Comparación de medias para la variable número de botones florales por planta acumulados en azalea ‘Estrella’ con diferentes tratamientos estimulantes de floración.....	43
Cuadro 5. Comparación de medias del número de flores acumuladas por planta en azalea ‘Estrella’ con diferentes tratamientos estimulantes de la floración.....	48
Cuadro 6. Comparación de medias de días de aparición de la primera flor en azalea ‘Estrella’ con diferentes tratamientos estimulantes de floración.....	50
Cuadro 7. Comportamiento de la apertura floral (mm) en azalea ‘Estrella’ con diferentes tratamientos estimulantes de la floración.	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Comparación de grupos de tratamientos con temperaturas a 10 °C (A) y 13 °C (B) contra el testigo, para la variable altura de planta en azalea 'Estrella'. 35	35
Figura 2. Comportamiento del crecimiento acumulado en porcentaje de azalea 'Estrella' con diferentes tratamientos estimulantes de floración.	37
Figura 3. Comportamiento del incremento en número de brotes secundarios por planta en azalea 'Estrella'.	40
Figura 4. Comportamiento del incremento en número de brotes terciarios por planta en azaleas 'Estrella'	41
Figura 5. Total de botones florales acumulados a los 83 y 86 días después del establecimiento (DDE) en azalea 'Estrella' con diferentes tratamientos estimulantes de floración.....	44
Figura 6. Total de flores por planta observadas a los 97 días después del establecimiento (DDE) en azalea 'Estrella' con diferentes tratamientos estimulantes de floración.....	47
Figura 7. Días a la aparición de la primera flor.....	52
Figura 8. Dinámica de la apertura de flores (%) en azalea 'Estrella' con diferentes tratamientos estimulantes de floración.	55
Figura 9. Iniciación y diferenciación floral en azalea cv. Estrella, del tratamiento 10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2%.....	58

I. INTRODUCCIÓN

Las azaleas pertenecen al género *Rhododendron* que pertenece a la familia *Ericaceae*. Son arbustos con hojas ovales y las flores tienen un cáliz formado por cinco sépalos y una corola con cinco pétalos, caracterizadas por cultivarse como plantas de flor para maceta (Larson, 2004). La azalea pueden tener uno o más botones florales por brote terminal y en promedio los botones de flor tienen 2 a tres flores por cada botón (Criley, 1985).

La floración es un proceso compuesto de una secuencia de eventos temporales y especialmente ordenados; esta secuencia de etapas tiene sus propios requerimientos y es afectada por factores externos e internos. El tiempo de floración es principalmente influenciado por factores ambientales (externos) que incluyen longitud día/noche (fotoperiodo), periodo de bajas temperaturas (vernalización), nutrientes y disponibilidad de agua (Levy y Dean, 1998). El desarrollo de señales internas para controlar la floración permiten que las plantas regulen su floración cuando una planta tiene un óptimo tamaño, numero de nudos o edad (Erwin, 2007). Así como las hormonas y el flujo de nutrimentos también pueden influir en el tiempo de floración (Ainsworth, 2006).

El control de las diferentes etapas del proceso de floración es flexible y esta plasticidad que existe en muchas plantas es de gran significancia ecológica debido a que ofrece a la planta la posibilidad de llegar a la floración en una amplia variedad de condiciones ambientales, en la práctica, la plasticidad en la floración exhibida por las plantas es favorable en la manipulación de la época de producción (Kinet, 1993).

Lograr una floración suficiente y una reducción del tiempo a floración se han convertido en prioridades de investigación, y de esta manera obtener una mayor rentabilidad en los cultivos. El adelanto de la floración es factible si se realizan actividades que estimulen la floración, ya sea a través de la modificación de condiciones ambientales, la aplicación de productos químicos o el uso de reguladores de crecimiento como las citocininas.

Así una temperatura nocturna de 18 °C ha sido considerada el mínimo para la iniciación uniforme del botón floral en azaleas. La heterogénea base de cultivares de azaleas existentes, permiten excepciones a esta regla general ya que hay reportes de iniciación retardada a temperaturas más frías hasta 10 °C. Así temperaturas mínimas de 13 °C y predominantes temperaturas de verano también han sido recomendadas para la iniciación floral (Halevy, 1985). Plantas de requerimiento de frío como el *Crysanthemum morifolium* Ram. cv. Shuokan,

después de recibir un tratamiento de bajas temperaturas rápidamente desarrolla flores (Harada y Nitsh, 1959).

Se reporta que las citocininas además de estimular la división celular, aplicadas exógenamente son también promotoras de la floración en *Arabidopsis* (Bernier y Perilleux, 2005). De esta manera el producto químico tidiazurón (TDZ) al presentar actividad citocinica se ha considerado para promover adelanto en la floración.

Finalmente se ha documentado que en azalea 'Percy' regadas con una solución nutritiva con niveles altos de potasio, se obtiene un mayor número de botones florales (Bielenin, 2004). Por otro lado se tiene un reporte aislado del uso de la aspersión de nitrato de potasio para superar el letargo del botón floral (Criley, 1985).

II. OBJETIVOS

- Evaluar el efecto que producen las bajas temperaturas, nitrato de potasio y tiazurón en la floración de azalea cultivar Estrella.
- Estudiar el proceso de floración en azalea identificando los cambios morfológicos en el meristemo.

III. REVISION DE LITERATURA

3.1 FLORACIÓN

El proceso de floración siempre ha sido considerado como una etapa de desarrollo el cual es un paso más allá de la etapa vegetativa. El concepto aceptado es que algunos cambios son producidos en plantas inducidas a florecer lo que lleva a la producción endógena de un compuesto específico que controla el proceso de floración (Ben-Tal, 1986).

La floración es un proceso de etapas múltiples compuesto de una secuencia de eventos temporales y especialmente ordenados; esta secuencia de etapas tiene sus propios requerimientos y es afectada por factores externos e internos. Las evidencias experimentales demuestran claramente la complejidad de los procesos que controlan la floración (Kinet, 1993).

El proceso de floración implica un cambio de los fenómenos morfológicos del ápice que transforma su crecimiento vegetativo indeterminado, con emisión de hojas, en crecimiento floral determinado, con emisión de piezas florales (sépalos, pétalos, estambres y carpelos) y sus correspondientes gametofitos (Sívori, 1980).

3.2 INDUCCIÓN Y DIFERENCIACIÓN FLORAL

El proceso por el cual eventos en un meristemo de un brote son alterados como una vía para producir flores es referido como evocación floral. La inducción floral es la señal exacta que resulta en evocación (Erwin, 2007). Esta transición de fase vegetativa a reproductiva generalmente implica un cese del crecimiento vegetativo (Ben-Tal, 1986).

La inducción floral se refiere a eventos que dan señal a la planta para cambiar su programa de desarrollo. Como una consecuencia, el meristemo apical del tallo se reorganiza a producir primordios florales en lugar de primordios foliares (Hopkins, 2004).

La inducción floral como el conjunto de procesos que originan que las células del meristemo vegetativo modifiquen su curso de desarrollo, iniciando la formación de órganos foliares de la flor en lugar de hojas (Almaguer, 1988). De acuerdo con Faust (1989) la inducción es un cambio cualitativo que es gobernado por un balance hormonal y es causado por cambios en la distribución de nutrimentos al interior del meristemo apical; varias partes vegetales están involucradas y finaliza con un cambio irreversible del meristemo del tallo para producir primordios de flor o inflorescencia (Kinet, 1993).

Los factores del medio son captados en las hojas y controlan en parte la producción de un estímulo floral transmitido hacia los meristemas apicales; en consecuencia, los ápices vegetativos sufren cambios que favorecen su diferenciación hacia primordios florales (Aukerman y Amasino, 1998).

Por otra parte, la diferenciación floral se refiere a los eventos que ocurren después de la iniciación y los cuales dan origen directamente a primordios florales (Avitia-García y Castillo-González, 2007).

Entre la inducción y la diferenciación ocurren una serie de eventos que muchos investigadores conocen como iniciación floral, que es un incremento en la actividad mitótica asociada con un decremento en la duración del ciclo celular y una sincronía de la división celular, un aumento en el número de mitocondrias y una división de vacuolas, alteración en los niveles de reguladores decrecimiento y azúcares, un alargamiento del tallo, pérdida de la dominancia apical y cambios en la filotaxia y forma de las hojas, una detención en la producción de hojas y finalmente una forma de domo adquirida en el meristemo (Kinet, 1993).

3.3 FACTORES QUE AFECTAN LA FLORACIÓN

La mayoría de las plantas usan señales ambientales para regular la transición a la floración; aun las de floración autónoma que no requieren un fotoperiodo o

temperatura particular, son sensibles a la irradiación. A su vez, los factores ambientales alteran el balance hormonal y nutrimental (Bernier *et al.*, 1993).

Las plantas han desarrollado mecanismos complejos para garantizar que la floración se produzca. La coordinación de estos mecanismos reguladores requiere la integración de diversas señales del ambiente con las señales fisiológicas endógenas para que la transición floral se produzca en el tiempo correcto (Ainsworth, 2006).

En 1920 Garner y Allard (1920) descubrieron que la inducción fotoperiódica de la floración fue el punto de partida para posteriores estudios fisiológicos investigando la transición floral. Mediante la definición de un estímulo externo controlable que podrían aplicarse a determinadas plantas para provocar la floración, se introdujo un sistema experimental que podría ser usado para diseccionar y analizar el proceso de inducción floral en el plano fisiológico.

La transformación de un meristemo vegetativo a uno reproductivo está determinado por condiciones externas, tales como: frío (vernalización), longitud del día (fotoperiodo), fertilización, anillado, podas, aplicación de reguladores del crecimiento, etc.; sin embargo, es claro que la señal para que esto se logre depende también de las especies y de los cultivares, dentro de la misma especie (Avitia-García y Castillo-González, 2007).

3.3.1 Factores ambientales

3.3.1.1 Luz y fotoperiodo

El fotoperiodo es reconocido como uno de los principales determinantes ambientales de la época de floración en muchas plantas. La aceleración de la floración en días largos (LD) en *Arabidopsis* implica la interacción de los fotorreceptores, principalmente criptocromo 2 (cry2) y fitocromo A (phyA), con el oscilador circadiano endógeno (Yanovsky y Kay, 2002). Además del fotoperiodo, otras señales de la luz también tienen un marcado efecto del tiempo de floración. La calidad de luz, en concreto las proporciones relativas de luz roja y rojo lejano (proporción Rojo: Rojo-lejano), proporciona una señal potente que regula tanto el desarrollo vegetativo y la transición a la floración (Halliday *et al.*, 2003).

El fotoperiodo y la radiación son percibidos principalmente por las hojas maduras de las plantas intactas. Se tiene la evidencia de que el fotoperiodo conduce a la producción de señales de floración transmisibles. Las hojas de plantas fotoperiodicas producen los promotores y los inhibidores de la floración, cuando son expuestas a los regímenes de duración del día favorables y desfavorables, respectivamente. Estas señales son generalmente transportadas de las hojas al meristemo apical en el floema con los asimilados (Bernier *et al.*, 1993).

Entre las especies sensibles al fotoperiodo respecto al fenómeno de inducción floral, pueden distinguirse plantas de día corto, en las que la floración se induce como consecuencia de la exposición a días cortos; plantas de día largo en las que la floración se induce por exposición a días largos; y plantas neutras, en las que el proceso de inducción floral no es afectado por la duración del día (Wareing y Phillips, 1986).

3.3.1.2 Agua

Existen diversas referencias que muestran que una reducción en el suministro de agua en verano está fuertemente asociada con la formación de yemas florales en plantas leñosas. El estrés por falta de agua en árboles frutales está asociado con la detención del crecimiento (Avitia-García y Castillo-González, 2007).

El agua impone una fuerte presión selectiva e influencias en casi todos los aspectos de la biología de las plantas. La deficiencia de agua (sequía) y el exceso de agua (inundaciones) causan estrés a las plantas que en el caso de las inundaciones se debe a condiciones de anoxia en la raíz. En *Arabidopsis*, la sequía y tratamientos inundación no parecen causar un efecto significativo en el tiempo de floración de diferentes genotipos silvestres (Ausin *et al.*, 2005).

Se ha dicho que en frutales caducifolios un déficit temporal de agua durante el día provoca que los arboles empiecen a disminuir el crecimiento e inicien la formación de yemas florales. Sin embargo, un déficit prolongado de agua evita la iniciación floral (Avitia-García y Castillo-González, 2007).

3.3.1.3 Temperatura

La temperatura constituye uno de los principales factores ambientales previsible que regulan el tiempo de floración. Como la luz, la temperatura también muestra una variación diurna y estacional a lo largo del año y esta variación no sólo regula las condiciones de la planta en tasa de crecimiento sino que regula el tiempo de desarrollo de muchas transiciones, como la germinación, latencia de yemas y ruptura, o inicio de la floración (Henderson *et al.*, 2003).

En muchas especies de climas templados un requerimiento de bajas temperaturas del invierno aseguran floración en primavera. Este prolongado tratamiento de refrigeración necesario para promover o acelerar la floración se conoce como vernalización (Ausin *et al.*, 2005).

Cuando plantas de crisantemo con requerimiento de frío, al no ser expuestas a bajas temperaturas estas permanecen en estado vegetativo y rosetadas por un

largo tiempo. Así, plantas sometidas a 1°C en un cuarto frío, de 5 p.m a 8 a.m, todos los días durante el periodo requerido florecen tempranamente; mientras que a una temperatura de 16 °C, la floración finalmente ocurre sin tratamiento de frío después de 30 semanas (Harada y Nitsh, 1959).

En las plantas que requieren frío la floración se produce sólo después de una exposición prolongada a bajas temperaturas, y muchas plantas que requieren vernalización requieren una posterior respuesta fotoperiodica para florecer (Ainsworth, 2006).

3.3.2. Factores genéticos

Independientemente del origen de la señal, el fin último de la inducción floral es convertir el meristemo apical del brote (MAB) de un estado vegetativo a un estado reproductivo (Perilleux y Bernier, 2002). En *Arabidopsis*, este proceso está genéticamente definido, con varios genes identificados que son importantes para la transición floral (Ainsworth, 2006).

Estudios genéticos en *Arabidopsis* y otras especies vegetales, tales como boca de dragón, petunia, y maíz han puesto de manifiesto una jerarquía de genes reguladores que funcionan juntos para promover la formación de los

meristemas florales y la regulación de la organogénesis floral (Okamuro *et al.*, 1993).

La inducción floral se encuentra genéticamente regulada desde la germinación y una vez que después de esta etapa se establece la condición de crecimiento vegetativo, la permanencia del meristemo como vegetativo o su cambio a reproductivo está controlado por otro grupo de genes (Bernier *et al.*, 1993) simples o múltiples, dominantes o recesivos que especifican la época de inducción, modifican los requerimientos ambientales para esta transición o inhiben el control del ambiente (Kinet, 1993).

Se han identificado seis genes de *Arabidopsis* que juegan un papel importante en la regulación de la identidad del meristemo floral y el patrón de desarrollo de meristemas. Uno de estos genes ***TERMINAL FLOWER1 (TFL1)***, asegura que la inflorescencia y meristemas florales sigan siendo funcionalmente distintos. Los otros cinco genes, ***LEAFY (LFY)***, ***CAULIFLOWER (CAL)***, ***AP1***, ***AP2***, Y ***AGAMOUS (AG)*** juntos controlan el patrón de desarrollo de la flor mediante el control de identidad del meristemo floral (Okamuro *et al.*, 1993).

La respuesta al fotoperiodo está regulada por la movilización e hidrólisis de asimilados como se observa en *Sinapsis alba* donde los alelos recesivos

mutantes *pgmTC75* y *sopTC26T* se expresan en fenotipos de crecimiento lento y floración tardía por la inhabilidad para movilizar y degradar almidón, respectivamente (Bernier *et al.*, 1993).

Los asimilados movilizados hacia el ápice no son por si solos el factor que lleva a la inducción (Beveridge *et al.*, 1992) y la disponibilidad de sacarosa parece ser indispensable pero no suficiente para este proceso, necesitamos también de una regulación hormonal. Lo que lleva a concluir que el control de la transición incluye muchos genes que se expresan por varios caminos regulatorios (Bernier *et al.*, 1993).

Aunque las evidencias del control genético sobre la floración incluyen la respuesta a la longitud del día y temperatura, es posible pensar en mecanismos semejantes en las plantas de floración autónoma (Kinet, 1993).

3.3.3. Factores hormonales

3.3.3.1. Giberelinas

El efecto de las giberelinas no está limitado a la estimulación del crecimiento. Ellas han sido demostradas en tener varios papeles incluyendo la promoción de partenocarpia en algunas especies, retrasando la senescencia y abscisión de

hojas, rompimiento del letargo de semillas y la estimulación de floración en plantas de día largo (Öpik y Rolfe, 2005).

En los últimos años, avances interesantes se han hecho en la comprensión de como la biosíntesis de esta hormona es regulada por factores endógenos y ambientales (Yamaguchi y Kamiya, 2000).

El papel de GAs en la transición a floración ha sido difícil de establecer. Por otro lado, hay muchos ejemplos en los cuales la abundancia o composición de GAs endógenas cambian bajo condiciones que inducen la floración. Además, porque aplicando ciertas giberelinas pueden inducir floración en algunas especies (Levy y Dean, 1998).

El aumento de fotoperiodo aumenta los niveles de GA en muchas plantas de día largo, presumiblemente como resultado de la percepción de la duración del día por el fitocromo. La fotoregulación del metabolismo de GA puede ser el resultado de la presencia o ausencia de luz, la transición entre luz y oscuridad, la duración o alteración de longitud del fotoperiodo, la calidad de la luz (particularmente luz roja y rojo lejano), y la cantidad de luz (Lee *et al.*, 1998).

En *Arabidopsis*, la señalización mediada por GAs parece jugar un papel de promoción en la floración, particularmente bajo fotoperiodos no inductivos (Levy

y Dean, 1998). Por su parte Blázquez *et al.* (1998) mencionó que en *Arabidopsis*, la reducción severa de giberelinas endógenas retrasa la floración en días largos y evita la floración en días cortos.

3.3.3.2. Auxinas

La primer hormona del crecimiento vegetal en ser descubierta fue la auxina – el nombre se deriva del Griego auxein significando ‘aumentar’. Además de estimular el crecimiento, las auxinas tienen muchos otros efectos en el desarrollo de la planta. Por ejemplo, la auxina juega un papel clave en la dominancia apical. Auxinas También son importantes en la regulación de la formación de raíces laterales, el desarrollo del sistema vascular, partenocarpia y en la senectud (Öpik y Rolf, 2005).

La información que se tiene de la actuación de estas hormonas en la inducción floral es poca y está basada en plantas modelo como *Sinapsis alba* (Bernier *et al.*, 1993).

Kinet (1993) mencionó que el efecto de las auxinas sobre la inducción depende de la dosis, ya que bajas concentración ayudan a la diferenciación y las altas la inhiben; igualmente la sensibilidad del tejido es muy importante, de modo que

inhiben la inducción antes de que el tejido se coloque bajo condiciones inductivas pero la acelera después de esa etapa.

3.3.3.3 Citocininas

Las citocininas son una clase de fitohormonas definidas por primera vez como sustancias que estimulan la división celular en el cultivo de células de tabaco. Sin embargo, aplicando externamente citocininas presentan una amplia variedad de efectos. Estos incluyen la iniciación de brotes de cultivos callos, la promoción del crecimiento de yemas axilares, el transporte dirigido de nutrientes, la estimulación de la síntesis del pigmento, la inhibición de crecimiento de las raíces, y el retraso de la senescencia. Teniendo en cuenta los problemas con la aplicación exógena y los efectos pleiotrópicos, el posible papel de las citocininas endógenas en el crecimiento de la planta y la diferenciación es difícil de evaluar (Medford *et al.*, 1989).

La implicación de las citocininas en el control del proceso de inducción floral ha sido investigada a fondo, pero hasta el momento sin resultados convergentes. La más simple y clara situación ha sido descrita en *Sinapis alba*, en donde plantas inducidas a florecer por un solo día largo (LD), se incrementa el contenido de citocininas significativamente en las hojas y en la sabia del floema

de la hoja en el momento del movimiento del estímulo floral (Corbesier *et al.*, 2003).

Análisis de citocininas endógenas en otras especies han puesto de manifiesto que la mayoría de ellas presentan incrementos similares en, y/o el suministro en, el ápice del brote en transición floral (Bernier *et al.*, 1981; Kinet *et al.*, 1993). Por lo que en muchas especies en las que las citocininas tienen un efecto inductor floral y un modelo elaborado que postula el movimiento de una combinación de citocininas con sacarosa al ápice para inducir floración se ha propuesto (Bernier y Perilleux, 2005).

Se ha informado que las citocininas y etileno actúan positivamente en la formación de yemas florales en pera japonesa y manzana (Izumi *et al.*, 1988).

La iniciación de yemas florales y el desarrollo se logró en *Boronia megastigma* *in vitro*, estudiando el efecto de citocininas en la floración se investigó en condiciones ambientales que promueven la floración, así como en condiciones que estimulan el crecimiento vegetativo. La iniciación de flores y la diferenciación fue mejorada por citocininas, sin embargo, muchas yemas de flores revirtieron cuando los medios contenían niveles altos de citocininas (Roberts *et al.*, 1993).

3.3.3.4 Ácido abscísico

Considerando que las auxinas, citoquininas y giberelinas son mejor conocidos como promotores de crecimiento, las abscisinas generalmente inhiben el crecimiento. El ácido abscísico (ABA) es importante en la inducción de la latencia en semillas y los brotes, así como el aumento de la resistencia al estrés de estos órganos. Otra función importante del ABA es en el control de la apertura de los estomas (Öpik y Rolf, 2005).

El papel del ácido abscísico en la inducción floral es muy controversial, por una parte, algunos investigadores indican que es inhibidor de este proceso (Bernier *et al.*, 1993) mientras que otros han logrado incrementar las tasas de iniciación floral en orquídeas al tratar los bulbos con ABA antes de cultivarlos en un medio con 6-bencilamino purina (BA) (Wang *et al.*, 1993).

3.3.4 Factores nutrimentales

La teoría de desviación de nutrientes de la transición floral se basa en los cambios de concentración de sacarosa durante la transición floral, con niveles de sacarosa superior al MAB siguientes a los tratamientos de inducción floral en especies como *Sinapis alba*. Cambios en la proporción relativa del transporte de azúcar y nitrógeno al ápice, también están implicadas en esta teoría (Ainsworth, 2006).

Antes de la inducción floral en chícharo de olor (*Lathyrus odoratus* L.) se observa un flujo de asimilados fotosintéticos hacia regiones específicas como la zona nudo-entrenudo (Beveridge *et al.*, 1992) y el meristemos apical en *Sinapis alba*, en esta última, activando procesos como la mitosis y originando cambios ultra estructurales observados durante la transición a la floración (Bernier *et al.*, 1993). Sin embargo, los incrementos de sacarosa en el ápice no son esenciales ni suficientes para la iniciación floral en algunas especies como *Lolium temulentum* L. (King y Evans, 1991).

El efecto del nitrógeno sobre la inducción floral depende de la fuente, la especie y la época de aplicación (Jacson y Sweet, 1972). En manzano se encontró que la iniciación floral es significativamente mayor cuando el N es aplicado en forma de NH_4^+ , que cuando es aplicado como NO_3^- , atribuyendo al aminoácido arginina la principal importancia para la iniciación, ya que se ha comprobado que está correlacionada con la morfogénesis y división celular (Edwards, 1986).

Se ha observado que el fósforo (P) está frecuentemente implicado en la formación floral y se ha encontrado una relación casi lineal entre el número de flores producidas y el contenido de fósforo en las hojas (Landsberg y Thorpe, 1975). En ciruelo, peral, manzano, limonero, durazno y castaño, el P incrementa el número de yemas florales (Jacson y Sweet, 1972).

El nivel de Ca^{2+} en el exudado de raíz incrementa temprana y transitoriamente en respuesta a la inducción de plantas *Sinapsis alba* por un LD o un desplazado SD (Havelange y Bernier, 1993). El aumento de la oferta de Ca^{2+} al brote aparece como un efecto tardío y secundario de la inducción. Curiosamente, a diferencia de Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^{+} no son suministrados en cantidades mayores al brote de las plantas inducidas (Bernier *et al.*, 1993).

3.3.5 El control multifactorial en la inducción floral

El sistema multifactorial de control descubierto en *Arabidopsis*, donde diferentes factores regulatorios de la inducción interactúan en diferentes pasos del proceso. Esta complejidad es incompatible con la simple teoría del florigeno/antiflorígeno. Entre los factores endógenos que intervienen en el control de la floración, tanto nutrientes y hormonas se encuentran, de acuerdo con el concepto de que este control es multifactorial y no simplemente el resultado de la desviación de nutrientes (Bernier *et al.*, 1993).

Beveridge *et al.* (1992) Indicaron que la distribución de asimilados hacia regiones específicas de la planta de *Lathyrus odoratus* L., necesaria para la inducción, está regulada por compuestos inhibidores de la floración; mientras que en *Lolium temulentum* L. las altas concentraciones de sacarosa en el ápice, resultado de la distribución de asimilados estimulada por altas

irradiaciones, no reemplaza la exposición por lo menos, a un día largo para que se dé la inducción (King y Evans, 1991).

Por último, las señales endógenas que transmiten información sobre el estado de crecimiento, tales como tamaño de la planta, hormonas y flujo de nutrientes, pueden influir en el tiempo a floración (Bernier *et al.*, 1981). Especies de plantas de flores después de producir un número definido de hojas, independientemente de factores ambientales externos, puede depender de estas señales endógenas para florecer. Estudios de determinadas variedades de maíz y tabaco, que florecen sólo después de generar un número predecible de hojas apoyan la existencia de una vía endógena de inducción floral (Ainsworth, 2006).

3.4 ANATOMÍA DE LA DIFERENCIACIÓN FLORAL

Las plantas son el producto de meristemas. Durante la embriogénesis, las plantas angiospermas generan dos distintos meristemas apicales, el meristema apical de raíz y el meristema apical del brote (MAB), que representan totalmente la vida de la planta como un recurso continuo de nuevas células para la organogénesis (Fletcher, 2002). Al término de la fase vegetativa señales de factores ambientales y endógenos la planta experimenta la transición a floración y desarrollo reproductivo

Uno de los principales cambios que se producen en el MAB en respuesta a la transición floral es una alteración en los patrones de expresión de determinados genes. El meristemo apical de brote de *Arabidopsis* es un ejemplo típico (Glover, 2007).

El MAB se compone de tres capas de células. La capa exterior se llama L1, y es una sola célula gruesa. Estas células se dividen anticlinalmente para generar la epidermis de la planta. Debajo de la capa L1 está la L2, generalmente con 2-3 células gruesas y otra vez compuesto por células que se dividen principalmente anticlinalmente. La mayor parte de tejido vegetal es producido a partir de la capa de L3, que pueden ser muchas capas de células gruesas (Glover, 2007).

El meristemo apical de brote vegetativo es típicamente en forma de cúpula y repartido por distintas zonas de actividad. En muchas especies, las regiones ultra periféricas dos (a veces más) capas de células (L1 y L2, denominadas colectivamente como la túnica) se mantienen predominantemente por divisiones celulares anticlinales. El corpus (L3), en el que las divisiones celulares están orientadas al azar, es la región proximal a la túnica. Así, las capas externas contribuyen a la superficie de crecimiento y las capas interiores a un aumento en el volumen, aunque a menudo hay poca intergradación entre las dos capas (Rudall, 2007).

Los ápices de brotes reproductivos son ejemplos complejos del crecimiento determinado. Durante la transición a la fase de floración (denominada transición floral), el ápice del brote comúnmente se somete a un profundo cambio morfológico. En general, en la transición floral hay un aumento global de la actividad mitótica en el ápice del brote, pero un aumento proporcionalmente mayor en las células apicales axiales que entre las células periféricas (Rudall, 2007).

3.5 NITRATO DE POTASIO COMO ESTIMULANTE DE FLORACIÓN

Davenport y Núñez-Elisea (1990) encontraron que el nitrato de potasio fue efectivo para promover la floración del mango cuando éste se desarrolla en condiciones tropicales, pero no en condiciones subtropicales, lo cual indica que el efecto del nitrato se expresa en ciertas condiciones ambientales.

Una explicación del efecto del nitrato de potasio en la floración de mango, se plantea con un modelo en el que se vuelve a dirigir la idea de un estímulo de flores a uno donde un inhibidor controla la floración. El modelo asume que un árbol asperjado con nitrato de potasio es ya competente para florecer, pero se inhibe de hacerlo por el ácido giberélico (GA). El nitrato de potasio, probablemente actúa elevando los niveles de nitrógeno por encima de un

umbral de nitrógeno por lo tanto la sincronización de brotación de ápices con las florales iniciales (Protacio, 2000)

3.6 ACTIVIDAD COMO CITOCININA DEL TIDIAZURÓN

El tidiazurón muestra alta actividad de citocinina y encontró aplicación en el cultivo de tejidos. Tidizurón es un componente de la preparación Dropp-50, el cual se aplica para la defoliación.

La actividad Citocinínica de TDZ (*N*-phenyl-*N'*-1, 2, 3-thiadiazol-5-ylurea) se detectó en un bioensayo para la formación de callo en *Phaseolus lunatus* cv. Kingston, donde tuvo mayor actividad que los derivados thidiazolurea y las citocininas más activas del tipo adenina (Mok *et al.*, 1982). Aceptándose posteriormente como un regulador del crecimiento vegetal;

3.7 PROMOCIÓN DE BROtación CON TIDIAZURÓN

Se han encontrado respuestas morfogenéticas del TDZ imitando la actividad de las citocininas, las cuales incluyen la liberación de yemas laterales de la latencia y la formación de brotes en cultivos de una amplia variedad de especies de plantas (Visser *et al.*, 1992).

La brotación en manzana ('Golden Delicious', *Malus domestica* Borkh) fue inducida por tidiazurón. Una disminución de los carbohidratos solubles y almidón, tanto en el floema y xilema se asoció con la inducción de la brotación por tidiazurón. La ruptura de la latencia por tidiazurón también se asoció con un aumento del contenido de ácido orgánico y la respiración en las yemas (Wang *et al.*, 1987).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 LOCALIZACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DEL SITIO EXPERIMENTAL

El experimento se estableció en el laboratorio de Fisiología de Frutales de Fitotecnia y en un invernadero de estructura metálica y cubierta de polietileno del Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, Estado de México, ubicado a 19° 29' latitud norte y 98° 53' longitud oeste, a una altitud de 2, 251 m.

El clima de la localidad es del tipo Cb(Wo)(W)(i')g, que corresponde a un templado subhúmedo con lluvias en verano, una época seca en invierno y con poca oscilación térmica (5 y 7 °C). La temperatura media anual es de 15.5 °C; mayo es el mes más caliente y enero el más frío. La precipitación media anual es de 664 mm.

4.2 MATERIAL VEGETAL

Se utilizaron azaleas del cultivar Estrella provenientes de la región de Huauchinango, Puebla. Se seleccionaron plantas con un año de crecimiento y con una poda tres meses después del transplante, la cual consiste en cortar el ápice del tallo para superar la dominancia apical y estimular el inicio lateral de

los brotes. Después de la poda se dejaron ocho semanas de crecimiento vegetativo, para la aplicación de los tratamientos.

4.3 DESCRIPCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo se dividió en dos fases: la primera consistió en el estudio del efecto de la combinación de bajas temperaturas, thidiazurón y aplicación foliar de nitrato de potasio sobre la floración. La segunda fase fue un seguimiento del proceso de diferenciación floral durante el desarrollo de la planta, a partir del establecimiento del experimento hasta el momento en que se observó la presencia de botones florales en diferentes fases: primero botones de tamaño pequeño y alargado, luego botones abultados y alargados y finalmente botones con indicios de color, es decir, inicio de brotación floral.

4.3.1 Manejo de las plantas durante el experimento

El manejo que se dio a las plantas fue el mismo que realiza el productor, se fertilizó cada mes desde el establecimiento del experimento con nitrofoska azul en una dosis de un gramo por planta, el cual es un fertilizante compuesto granulado. También se fertilizó vía foliar con gro-green, a una dosis de 2 gr/litro de agua. Los riegos se hicieron de acuerdo a las necesidades hídricas de la planta. Se hicieron aplicaciones preventivas de fungicidas para evitar problemas de hongos y particularmente del hongo *Fusarium*. Además se realizaron

aplicaciones de plaguicidas para controlar la presencia de pulgones (Cuadro 1).

El control de malezas se realizó de forma manual.

Cuadro 1. Prevención y control de plagas y enfermedades en azalea cv. Estrella

Producto	Uso	Dosis
Captan	Fungicida	1gr/litro
Cercobin	Fungicida	1.5 gr/litro
Manzate	Fungicida	1 gr/litro
Plenum	Insecticida	1.5 gr/litro

4.3.2 Tratamientos

Los tratamientos que se aplicaron fueron los siguientes:

1. Temperatura 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %
2. Temperatura 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %
3. Temperatura 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %
4. Temperatura 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %
5. Temperatura 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %
6. Temperatura 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %
7. Temperatura 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %
8. Temperatura 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %
9. Testigo

La aplicación de bajas temperaturas se hizo mediante dos cámaras de refrigeración, con control de temperatura digital. El producto fuente de thidiazurón fue Revent 500 SC, un producto comercial que contiene 42.4 % de thidiazurón.

El producto utilizado para el factor nitrato de potasio fue Ultrasol NKS (12-0-45) que es un fertilizante altamente soluble y que no deja residuos.

4.3.3 Aplicación de Tratamientos

Los tratamientos se aplicaron a partir del 13 de junio del 2010, fecha en la que se sometieron las plantas a bajas temperaturas colocándolas en las cámaras de refrigeración durante un periodo de 40 días y a la par un grupo de plantas se dejan en el invernadero. Posterior al periodo de frío se trasladaron las plantas al invernadero para observar la respuesta y continuar con los tratamientos. Se hicieron dos aplicaciones de TDZ, la primera a los ocho días y la segunda a los quince días después de sacar las plantas de las cámaras frías. Por último se aplicó el nitrato de potasio en la concentración correspondiente, ocho días después de la segunda aplicación de TDZ. Las aplicaciones fueron por la mañana (7:00 am a 11:00 am) para evitar altas temperaturas que pudieran evaporar rápidamente al producto. Se utilizó una mochila aspersora (Swissmex) con capacidad de 15 litros. El asperjado fue fino hasta llegar al punto de goteo y dirigido a cubrir toda la planta.

4.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se realizó en un diseño factorial completo 2x2x2 más un tratamiento adicional, evaluando dos niveles de temperatura (10 y 13 °C), dos

dosis de tiazurón (50 y 100 mg·l⁻¹), dos concentraciones de nitrato de potasio (al 2 y 4 %) y el adicional, que no fue sometido a bajas temperaturas y sin la aplicación de algún producto químico; se tuvieron cinco repeticiones por cada tratamiento. De esta forma se generaron nueve tratamientos, correspondientes a las combinaciones de los diferentes niveles de los tres factores y cada tratamiento con cinco repeticiones, obteniéndose un total de 45 unidades experimentales. La unidad experimental fue de dos plantas.

4.5 VARIABLES RESPUESTA EVALUADAS

4.5.1 Altura de planta. Se midió la altura de las plantas cada 15 días, para ello se utilizó una regla, midiendo desde la base del tallo hasta la punta de la rama más distal.

4.5.2 Número de brotes. Se contó el total de brotes primarios, secundarios y terciarios presentes en la planta cada 15 días. Considerando como nuevos brotes a los que se generaron a partir del inicio del experimento.

4.5.3 Comportamiento de la floración. Se contaron el número de botones florales presentes al momento de la evaluación cada tercer día, hasta el inicio de la floración. También se contó el número de flores presentes por planta, cada tercer día, hasta la senescencia de las mismas.

4.5.4 Días a la aparición de la primera flor. Se cuantificó el número de días al momento en el que se observó la primera flor.

4.5.5 Diámetro de flor. Se realizó tomando el extremo de un pétalo al extremo de otro pétalo pasando por en medio de la flor, mediante un vernier.

4.5.6 Proceso de diferenciación floral.

Para el estudio del proceso de diferenciación, se realizaron cortes anatómicos transversales del ápice, en los que se observó el desarrollo del proceso floral y con ello se identificaron las partes florales durante la diferenciación floral.

4.6 MUESTRAS PARA HISTOLOGIA

Para determinar la fecha de iniciación floral se hicieron cortes de meristemo apical. Los muestreos se realizaron quincenalmente durante junio-septiembre del 2010. Se analizó una yema por tratamiento. Para la selección de las ramas se colectaron aquellas que estuvieran en la parte central y exterior de la copa.

4.7 CORTES DE MERISTEMO APICAL

Esta parte del estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Patología Forestal de la División de Ciencias Forestales, de la Universidad Autónoma Chapingo. Los

brotes colectados se llevaron al laboratorio el mismo día en que fueron cortados, se hizo una disección quitando todas las hojas y se dejó solo el meristemo. Una vez obtenidos los meristemos se llevaron al micrótopo de congelamiento para realizar los cortes longitudinales del tejido. El grosor de los cortes fué entre 35 y 40 μm .

Los cortes de tejido se colocaron en frascos con agua destilada para su conservación. Posteriormente se montaron para su preservación con glicerina y cubre objetos. Finalmente las preparaciones se observaron en un microscopio óptico Motic B3 Professional series a 10x de objetivo y 10 de ocular, se tomaron fotografías con una cámara Motic adaptada al microscopio, con 2.0 mega píxeles de resolución, para determinar el proceso de diferenciación floral.

4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información obtenida durante este experimento se analizó con el programa estadístico SAS y se hizo un análisis de varianza para cada variable estudiada con el procedimiento ANOVA. En los análisis que se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos mediante la prueba de F se hizo una comparación de medias con la prueba de Tukey con un $\alpha=0.05$.

V. RESULTADOS Y DISCUSION

5.1 ALTURA DE PLANTA

En la variable altura de planta se observó que en los primeros 15 días después del establecimiento (DDE) el testigo fue estadísticamente mayor con 14.1 cm contra el tratamiento 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 % con 11.56 cm que fue el de menor altura. A los 45 DDE se puede observar que el testigo con 16.06 cm es el de mayor altura diferenciándose estadísticamente de los otros tratamientos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Comparación de medias de altura de planta (cm) en azalea ‘Estrella’ con diferentes tratamientos estimulantes de floración.

TRATAMIENTOS	MUESTREOS					
	15 DDE	30 DDE	45 DDE	60 DDE	75 DDE	90 DDE
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	12.66 ab ^z	12.86 ab	13.30 b*	14.98 ab	15.42 ab	16.64 a
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	12.34 ab	12.86 ab	13.26 b	14.54 ab	15.06 ab	16.70 a
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2%	12.00 ab	12.32 b	12.64 b	14.10 b	14.54 b	16.36 a
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	11.56 b	11.98 b	12.46 b	13.62 b	14.26 b	15.72 a
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	12.32 ab	12.78 ab	13.14 b	14.70 ab	15.22 ab	17.32 a
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	12.14 ab	12.24 b	12.92 b	13.90 b	14.64 b	16.64 a
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de Potasio 2 %	12.68 ab	12.84 ab	13.20 b	14.00 b	14.52 b	16.16 a
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	12.28 ab	12.58 b	13.16 b	14.04 b	14.56 b	16.52 a
Testigo	14.1 a	15.08 a	16.06 a	16.60 a	17.06 a	17.74 a
C. V.	8.94	9.11	8.36	7.40	7.24	12.28

^z Medias dentro de columnas con mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey, P ≤ 0.05)

* Terminó de periodo de frío

C.V.: coeficiente de variación

DDE: días después de establecimiento del experimento

El comportamiento que siguieron los tratamientos durante los primeros 45 DDE es un crecimiento lento a diferencia del testigo que alcanzó una altura mayor en el mismo tiempo (Figura 1).

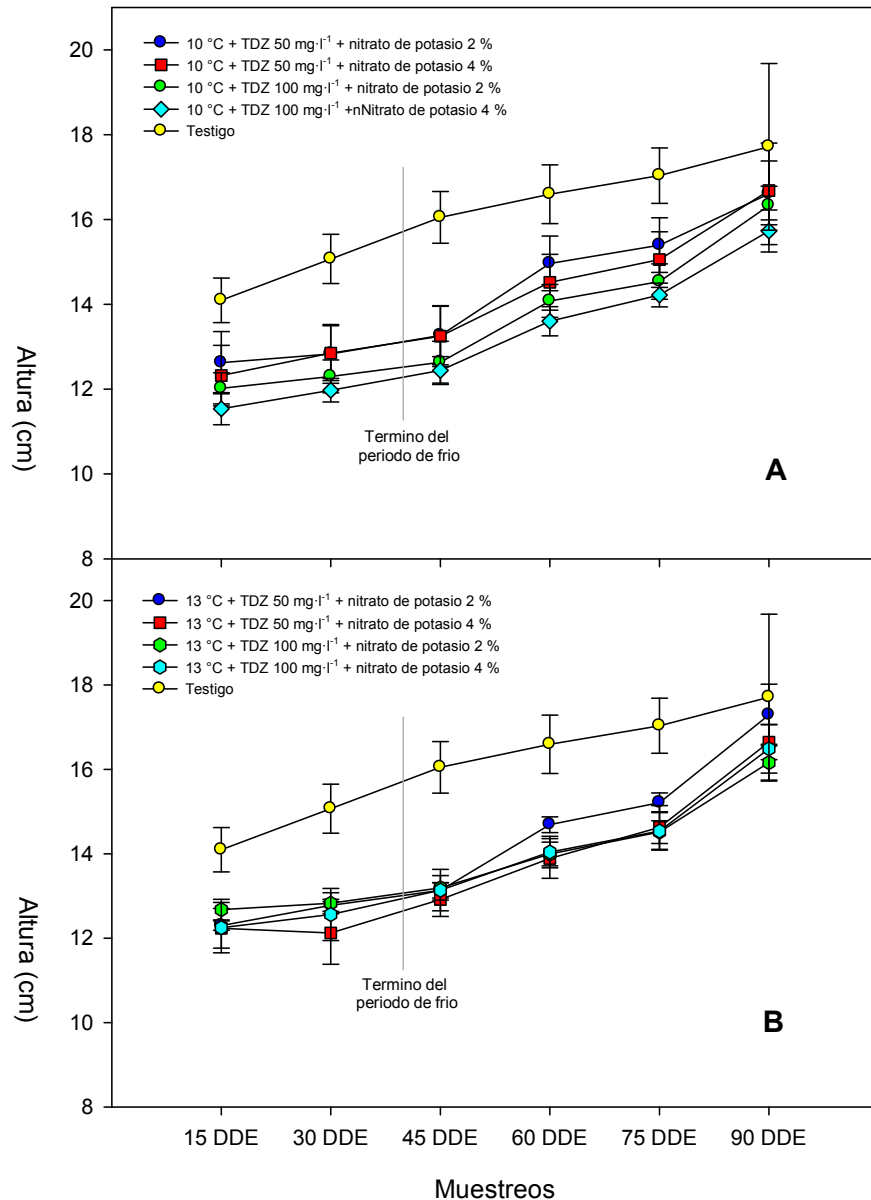


Figura 1. Comparación de grupos de tratamientos con temperaturas a 10 °C (A) y 13 °C (B) contra el testigo, para la variable altura de planta en azalea 'Estrella'.

Por otro lado se observó que durante este periodo los tratamientos habían crecido alrededor del 20 % contra el testigo que creció alrededor de 40 %, esto refleja que el crecimiento en altura del testigo fue más rápido (Figura 2). Las temperaturas óptimas durante el día para un crecimiento rápido y vigoroso en azaleas son de los 25 a 30 °C, mientras que temperaturas más frescas hasta los 13 ° aún presentan crecimiento pero este es lento (Larson, 2004).

El crecimiento se detiene, se inicia, o se modifica cuando cambian las condiciones ambientales (Californian Plant Health Association, 2008), así una vez que se cumplió el tratamiento de frío las plantas fueron trasladadas al invernadero, donde la temperatura promedio fue de 19.21 °C, condiciones adecuadas para un rápido crecimiento vegetativo.

En general se observó que los tratamientos no tienen efecto en la altura de planta y que la respuesta es de las plantas a la temperatura ambiente que favoreció el crecimiento, así a los 60 DDE el crecimiento acumulado por las plantas de los tratamientos se incrementó rápidamente disminuyendo considerablemente la diferencia contra el testigo, donde el tratamiento 10 °C + TDZ 50mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % había crecido el 55.6 % de la altura final, superando al testigo con 51.9 % Figura 2.

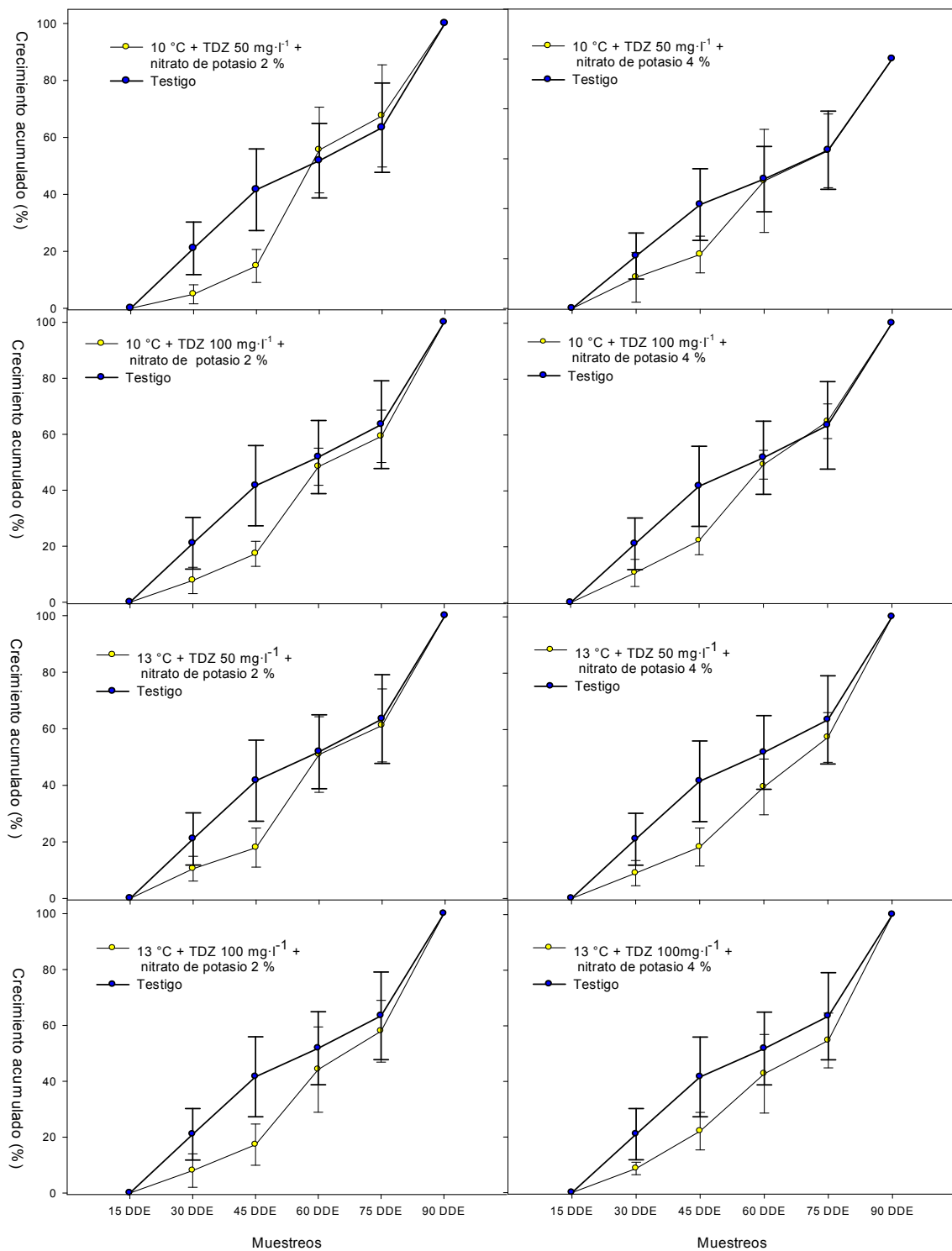


Figura 2. Comportamiento del crecimiento acumulado en porcentaje de azalea 'Estrella' con diferentes tratamientos estimulantes de floración.

Durante el periodo de evaluación se observó que las plantas del testigo fueron significativamente las de mayor altura, no obstante, el incremento total acumulado de altura de planta evaluado a los 90 DDE no mostró diferencias estadísticas entre los tratamientos y el testigo, es decir, que la altura final de planta fue la misma.

5.2 NÚMERO DE BROTES

Al inicio del establecimiento del experimento las plantas utilizadas tenían una estructura similar, es decir, tenían aproximadamente seis ramas primarias y tres ramas secundarias por planta. Durante el periodo de evaluación los tratamientos no mostraron diferencias estadísticas en número de ramas primarias, sin embargo se observó que a los 90 días después del establecimiento (DDE) hubo un incremento de brotes primarios ± 50 %.

La aparición de nuevos brotes secundarios a partir de las ramas primarias fue a partir de los 60 DDE observándose que el tratamiento temperatura 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 % con 8.12 brotes fue significativamente mayor, mientras que el tratamiento temperatura 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % significativamente el de menor brotes 3.92 (Cuadro 3).

Cuadro 3. Comparación de medias del número de brotes por planta acumulados en azalea ‘Estrella’ con diferentes tratamientos estimulantes de floración.

TRATAMIENTOS	BROTOS SECUNDARIOS			BROTOS Terciarios		
	MUESTREOS					
	60 DDE	75 DDE	90 DDE	60 DDE	75 DDE	90 DDE
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	7.52 ab ^z	24.02 a	40.38 ab	1 ab	14.26 ab	18.28 abc
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	5.02 ab	19.08 ab	33.22 ab	1.2 a	7.12 bc	14.12 bcd
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2%	5.88 ab	33.34 a	46.12 a	0.8 ab	16.26 ab	29.2 a
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	8.12 a	32.98 a	40.38 ab	0.6 ab	19.92 a	26.72 ab
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	3.92 b	19.88 ab	29.52 b	0.6 ab	8.18 bc	12.12 bcd
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	4.38 ab	24.14 a	30.24 ab	0 b	4.66 bc	6.12 cd
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de Potasio 2 %	5.18 ab	26.88 a	40.54 ab	0.82 ab	14.42 ab	19.96 abc
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	4.18 ab	29.48 a	42.92 ab	0.6 ab	12.58 abc	14.12 bcd
Testigo	6.68 ab	7.54 b	7.64 c	1.4 a	1.72 c	1.72 d
C. V.	35.40	30.65	22.79	68.40	51.03	45.39

^z Medias dentro de columnas con mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey, P ≤ 0.05).

C.V.: coeficiente de variación

DDE: días después de establecimiento del experimento

El comportamiento que se observó en la generación de brotes secundarios fue lineal, manteniéndose el testigo por debajo de los tratamientos (Figura 3). Considerando que durante este periodo las plantas fueron sometidas a condiciones de frío y a la aplicación de TDZ, se sugiere que los efectos de estos dos factores promueven la brotación. Por su parte Day *et. al.* (1995) mencionó que en plantas de *Boronia megastigma* al someterlas a condiciones de frío, a los pocos días de la transferencia hay un incremento transitorio en la concentración de ribósido zeatina y ribósido dihidrozeatina en los tejidos de raíz y tallo, de ser así este incremento durante el periodo de frío combinado con la

aplicación de TDZ en su concentración más alta provoca una acumulación endógena de citocininas generando una mayor brotación (Capelle, *et al.*, 1983).

Se observó que la acumulación de brotes secundarios a los 90 DDE muestra que el tratamiento temperatura 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % con 46.12 brotes fue significativamente el mayor contra el testigo que presentó el menor número de brotes 7.64 brotes secundarios (Figura 3).

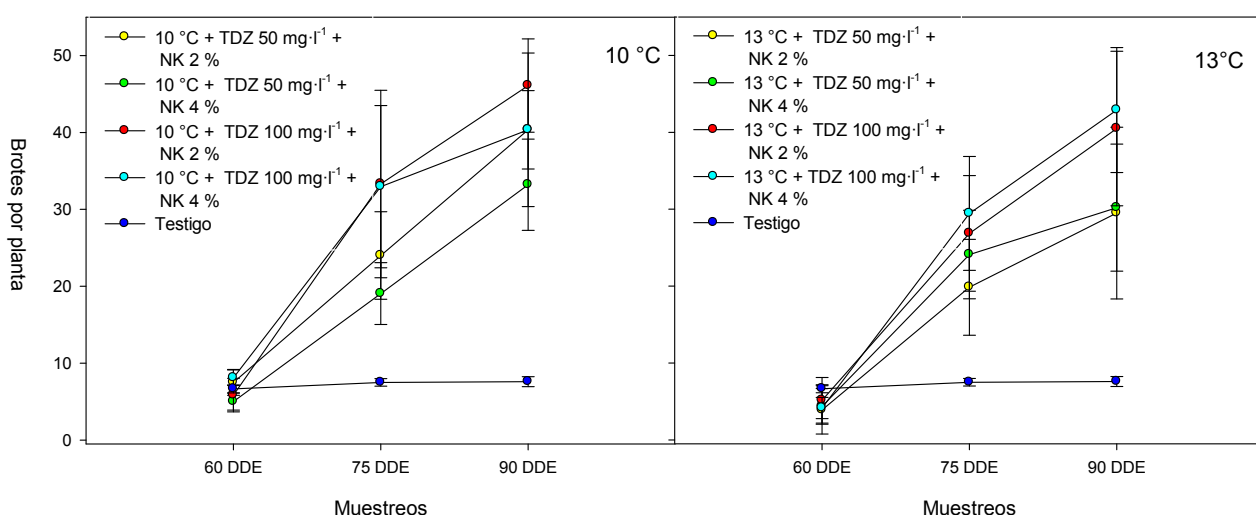


Figura 3. Comportamiento del incremento en número de brotes secundarios por planta en azalea 'Estrella'.

En estudios hechos *in vitro* sobre la regeneración de brotes a través de la vía de organogénesis muestran el requerimiento de concentraciones adecuadas de auxinas y citocininas, y estas dos fitohormonas actúan supuestamente para activar la cascada de señales relacionadas para promover la división celular y la diferenciación celular (Zheng *et al.*, 2006). Mientras que el TDZ ha demostrado promover la regeneración de brotes con una eficacia comparable o mayor que

las citocininas (Visser *et al.*, 1992), en este contexto se explica en parte que el mayor número de brotes se haya observado en el tratamiento con la concentración más alta de TDZ en combinación con la temperatura más fría.

Para la variable número de brotes terciarios los tratamientos a partir de los 60 DDE presentaron diferencias estadísticas (Cuadro 3) donde el tratamiento 13 °C + TDZ 50mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 % sin brotes fue significativamente el menor y los tratamientos 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 % y el testigo significativamente los de mayor número de brotes terciarios con 1.2 y 1.4 brotes, respectivamente. De los 60 a los 90 DDE existe un rápido incremento de brotes terciarios (Figura 4), presentándose el tratamiento 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % significativamente el de mayor número de brotes terciarios con 29.2 contra el testigo con 1.72 brotes estadísticamente el menor.

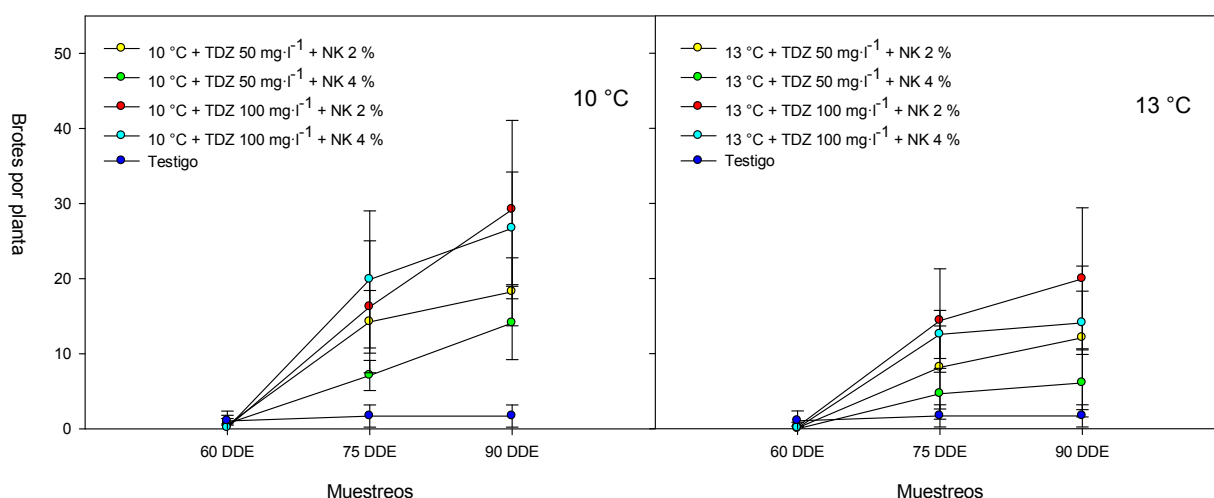


Figura 4. Comportamiento del incremento en número de brotes terciarios por planta en azaleas 'Estrella'

5.3 COMPORTAMIENTO DE LA FLORACIÓN

La aparición de botones florales comenzó a los 64 días después del establecimiento (DDE), observando que el mayor número de botones fue en las plantas testigo con 3 botones, superando significativamente al resto de los tratamientos, de los cuales $10\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 100\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 2\%$, $10\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 100\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 4\%$ y $13\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 100\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 4\%$ aun no tenían botones florales, estadísticamente los menores (Cuadro 4).

El efecto de la combinación de los factores durante el periodo de evaluación no es significativo ya que el mayor número de botones florales se presenta en el testigo, no obstante para algunos tratamientos el incremento de botones florales a partir de los 76 días después del establecimiento (DDE) muestran similitud estadística con el testigo como el tratamiento $10\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 50\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 2\%$ con 3 botones y a los 79 DDE los tratamientos $10\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 50\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 2\%$, $10\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 50\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 4\%$, $13\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 50\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 4\%$ con 3, 2.5 y 2.6 botones respectivamente, fueron estadísticamente similares entre ellos y el testigo con 4.4 botones florales (Cuadro 4). Estos datos sugieren que el papel de la temperatura en la activación del mecanismo para la transición de estado vegetativo a reproductivo para este estudio no es evidente y por el contrario retrasa la aparición de botones florales.

Cuadro 4. Comparación de medias para la variable número de botones florales por planta acumulados en azalea ‘Estrella’ con diferentes tratamientos estimulantes de floración.

TRATAMIENTOS	Periodo de observación de botones florales						
	64 DDE	71 DDE	73 DDE	76 DDE	79 DDE	83 DDE	86 DDE
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	1.40 b ^z	1.8 b	2.4 b	3.0 ab	3.0 ab	3.0 ab	3.0 ab
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	1.40 b	2 b	2.2 b	2.20 b	2.5 ab	2.5 b	3.1 ab
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	0 c	1.5 b	1.8 b	1.8 b	1.8 b	1.9 b	2.1 b
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	0 c	1.1 b	1.3 b	1.5 b	1.8 b	2 b	2.3 b
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	1.00 b	1.2 b	1.4 b	1.5 b	1.6 b	1.6 b	2.0 b
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	1.00 b	1.6 b	1.8 b	2.0 b	2.6 ab	2.6 b	2.4 b
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de Potasio 2 %	1.00 b	1.6 b	2.0 b	2.10 b	2.2 b	2.2 b	2.1 b
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	0 c	1.1 b	1.2 b	1.4 b	1.6 b	1.7 b	1.60 b
Testigo	3.00 a	3.8 a	4.0 a	4.0 a	4.4 a	4.6 a	4.8 a
C. V.	43.12	40.75	35.54	37.68	38.34	38.63	37.97

^z Medias dentro de columnas con mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey, P≤ 0.05).

C.V.: coeficiente de variación

DDE: días después de establecimiento del experimento

El efecto positivo de las citocininas en la formación de botones florales no es tan aparente ya que las plantas no tratadas presentan más botones florales que los tratamientos, sin embargo se observó una tendencia a tener un número de botones estadísticamente similar al testigo en los tratamientos con una concentración de 50 mg·l⁻¹ de TDZ. Hong Vu *et al.* (2006) indicaron que la sacarosa es el factor clave en la morfogénesis floral, mientras que citocininas aumenta el porcentaje de floración y ayudan al desarrollo normal de las yemas florales.

El papel de las citocininas en la morfogénesis, en especial la morfogénesis floral, se definió en muchos informes. Bernier *et al.* (1993) encontraron

citocininas como constituyentes del estímulo floral transportado en el floema la savia hasta el ápice en respuesta a un tratamiento de fotoperiodo que induce la floración. Por ejemplo, en *Arabidopsis*, la adición de la citocinina iPA (N6-(Δ^2 -isopentenyl)-adenosina) fue eficaz en la inducción de floración temprana y la formación de yemas florales *in vitro* (He and Loh, 2002).

Las plantas con mayor número de botones florales se obtuvieron a los 83 y 86 días después del establecimiento (DDE) en donde el testigo fue estadísticamente similar con los tratamientos 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % y 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %; el resto de tratamientos tuvieron estadísticamente el mismo número de botones florales (Figura 5).

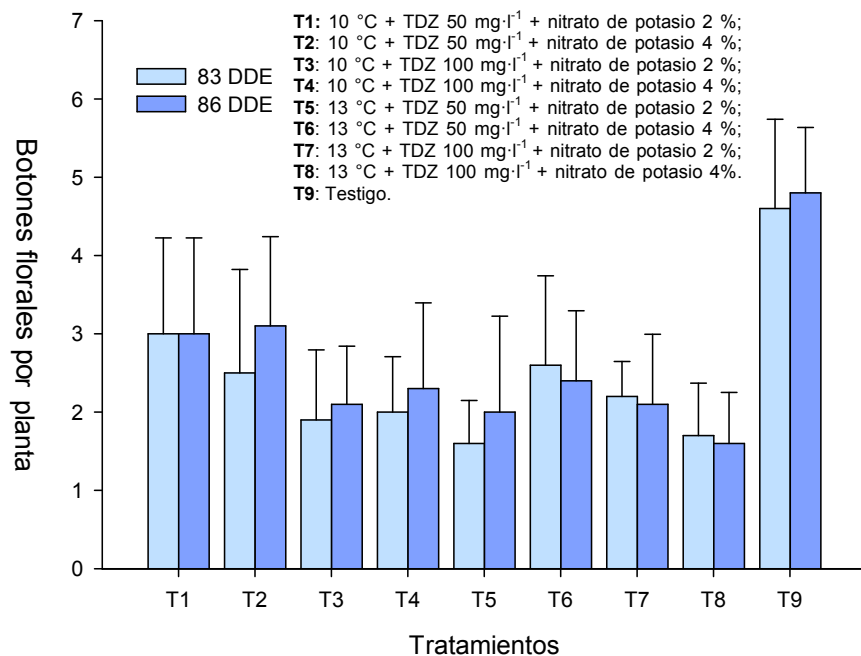


Figura 5. Total de botones florales acumulados a los 83 y 86 días después del establecimiento (DDE) en azalea 'Estrella' con diferentes tratamientos estimulantes de floración.

Durante la evaluación se observó que hubo botones florales que sufrieron aborto, esto se explica en parte a que el TDZ produce un gran incremento de brotes vegetativos principalmente en concentraciones de $100\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Correspondiendo a lo reportado por Roberts *et al.*, (1993) quienes mencionan que la iniciación de flores y la diferenciación se mejoró por citocininas, sin embargo, muchos botones florales revirtieron cuando los medios contenían niveles altos de citocininas.

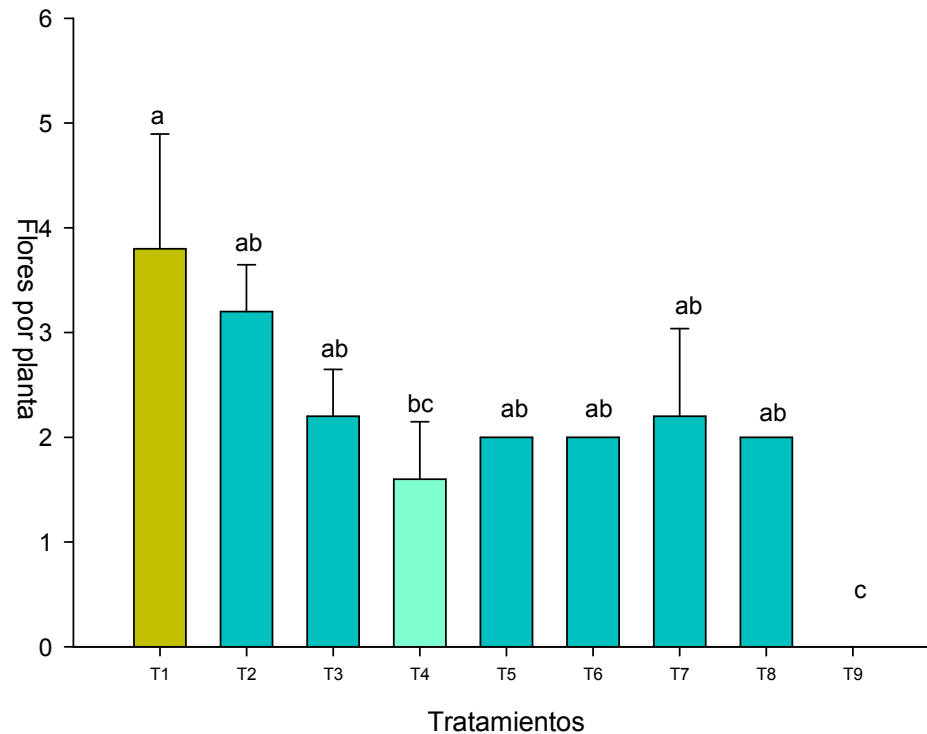
Una vez que la formación de botones florales alcanzó el máximo de botones se observó que hubo una correspondencia con el momento en el cual comienzan a aparecer las primeras flores en azalea, es decir el punto en el que los botones se convierten en flores. Así la amplitud de tiempo comprendido entre botones florales a inicio de floración es de alrededor de 15 días.

La transición del crecimiento vegetativo a floración es un punto crucial en el desarrollo de las plantas superiores y de gran importancia en la horticultura ornamental ya que el órgano de interés comercial es la flor. De esta manera el inicio de la floración fue a partir de los 79 días después del establecimiento (DDE) sobresaliendo los tratamientos $13\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 50\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 4\text{ \%}$ y $13\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 100\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 2\text{ \%}$ con 1 y 1.2 flores, respectivamente, estadísticamente similares entre ellos, mientras que el resto de los tratamientos aún no presentaban flores (Cuadro 5).

El comportamiento de la floración muestra que a los 88 DDE se observaron flores en todos los tratamientos, donde sobresalió estadísticamente el tratamiento $10\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 50\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 2\%$ como el de mayor número de flores con 3.4 flores y los tratamientos $10\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 100\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 2\%$, $10\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 100\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 4\%$ y $13\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 50\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 2\%$ significativamente los que menor número de flores mostraron.

La concentración del número de flores acumuladas por planta se presenta de los 91 a los 97 días después del establecimiento (DDE) observando que el tratamiento $10\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 50\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{Nitrato de Potasio } 2\%$ fue significativamente el que mayor número de flores presento (Cuadro 5).

En este periodo se aprecia que el número máximo de flores por planta no se alcanza en los mismos días, así, a los 91 DDE los tratamientos $10\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 50\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{Nitrato de Potasio } 2\%$ y $13\text{ }^{\circ}\text{C} + \text{TDZ } 50\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{Nitrato de potasio } 4\%$ con 3.8 y 2.4 flores por planta respectivamente presentan el máximo número de flores. Mientras que el resto de los tratamientos alcanzan su máximo número de flores a los 97 DDE (Figura 6.), excepto el testigo que durante este periodo no se llegó a observar alguna flor en las plantas.



T1: 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %; **T2:** 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %; **T3:** 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %; **T4:** 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %; **T5:** 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %; **T6:** 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %; **T7:** 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %; **T8:** 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %. **T9:** Testigo.

Figura 6. Total de flores por planta observadas a los 97 días después del establecimiento (DDE) en azalea 'Estrella' con diferentes tratamientos estimulantes de floración.

El efecto general de los tratamientos sobre la floración muestran que la mejor combinación fue 10°C + TDZ 50mg·l⁻¹ + Nitrato de Potasio 2% obteniendo el mayor número de flores. En este caso en particular se observa que el efecto de los factores es diferente de acuerdo a su nivel y combinación entre ellos, lo cual indica que el proceso de floración es complejo.

Cuadro 5. Comparación de medias del número de flores acumuladas por planta en azalea ‘Estrella’ con diferentes tratamientos estimulantes de la floración.

Tratamientos	Periodo de floración						
	79 DDE	82 DDE	85 DDE	88 DDE	91 DDE	95 DDE	97 DDE
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	0 b ^z	1.4 a	1.8 a	3.4 a	3.8 a	3.8 a	3.8 a
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	0 b	0 b	0 b	1.40 b	2.2 ab	2.6 ab	3.2 ab
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2%	0 b	0 b	0 b	1 bc	1.4 bc	2 ab	2.2 ab
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	0 b	0 b	0 b	1 bc	1 bc	1.4 bc	1.6 bc
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	0 b	0 b	0 b	1 bc	1.4 bc	1.8 bc	2 ab
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	1.2 a	1.4 a	1.4 a	1.8 b	2.4 ab	2.2 ab	2 ab
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de Potasio 2 %	1.0 a	1.2 a	1.4 a	1.8 b	2 b	2 ab	2.2 ab
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	0 b	0 b	0 b	1 bc	1.6 bc	1.6 bc	2 ab
Testigo	0 b	0 b	0 b	0 c	0 c	0 c	0 c
C. V.	60.98	67.08	74.35	45.26	44.93	45.61	43.52

^z Medias dentro de columnas con mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey, P ≤ 0.05).

C.V.: Coeficiente de variación

DDE: días después de establecimiento del experimento

Por otro lado se manifiesta que dentro de los tratamiento en que se obtuvo el mayor número flores la concentración de TDZ en común es de 50mg·l⁻¹, lo cual sugiere un efecto positivo del TDZ en concentraciones bajas. La presencia de citocininas es claramente necesaria para la inducción de la floración en *Kniphofia leucocephala in vitro* ya que no se observaron inflorescencias en los explantes control que no recibieron citocininas (Taylor, 2005). Wang *et al.* (2002) reportó que las citocininas desempeñan un papel importante en la inducción de flores *in vitro* de rosa y un medio suplementado con zeatina y tidiazurón (TDZ) produjo el porcentaje más alto de formación de yemas florales.

Los resultados indicaron que el nitrato de potasio promovió y adelantó la floración comparado con el testigo que no llegó a floración, donde la concentración de 2 % tuvo el mejor comportamiento, con base en el hecho de estar en la combinación que mayor número de flores presentó.

En un sentido más amplio atribuimos que el efecto del nitrato de potasio no induce la floración sino que promueve la brotación de los botones florales. Davenport y Núñez-Elisea (1990) encontraron que el nitrato de potasio fue efectivo para promover la floración del mango cuando este se desarrolla en condiciones tropicales, pero no en condiciones subtropicales, lo cual indica que el efecto del nitrato se expresa en ciertas condiciones ambientales. Al respecto se indicó una teoría de que el nitrato de potasio no es un agente inductor sino promotor de la brotación de yemas (Cárdenas y Rojas, 2003).

En contraste se observaron efectos negativos de la aplicación de nitrato de potasio y mayormente en la concentración al 4 % produciendo necrosis en los bordes de las hojas jóvenes de los brotes. Lo cual concuerda con lo reportado por Javier-García *et al.* (2008) que el nitrato de potasio provoca síntomas de fitotoxicidad cuando se emplearon concentraciones iguales o superiores al 2 % de este producto.

5.4 DÍAS A LA APARICIÓN DE LA PRIMERA FLOR

En la variable días a aparición de primera flor se puede observar que las plantas testigo fueron las más tardías diferenciándose estadísticamente de los tratamientos (Figura 7.). El tratamiento de menor duración a la aparición de la primera flor es el 13 °C + TDZ 50mg·l⁻¹ + Nitrato de potasio 4% con 79.6 días, teniendo una diferencia de 45.4 días a inicio de floración entre el tratamiento más precoz y el testigo que fue el más tardío (Cuadro 6).

Cuadro 6. Comparación de medias de días de aparición de la primera flor en azalea 'Estrella' con diferentes tratamientos estimulantes de floración.

TRATAMIENTOS	DÍAS
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	82.6 bcd ^z
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	89.2 b
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	90 b
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	90.4 b
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	88.6 bc
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	79.6 d
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de Potasio 2 %	80.2 cd
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	90.4 b
Testigo	125 a
C. V.	4.69

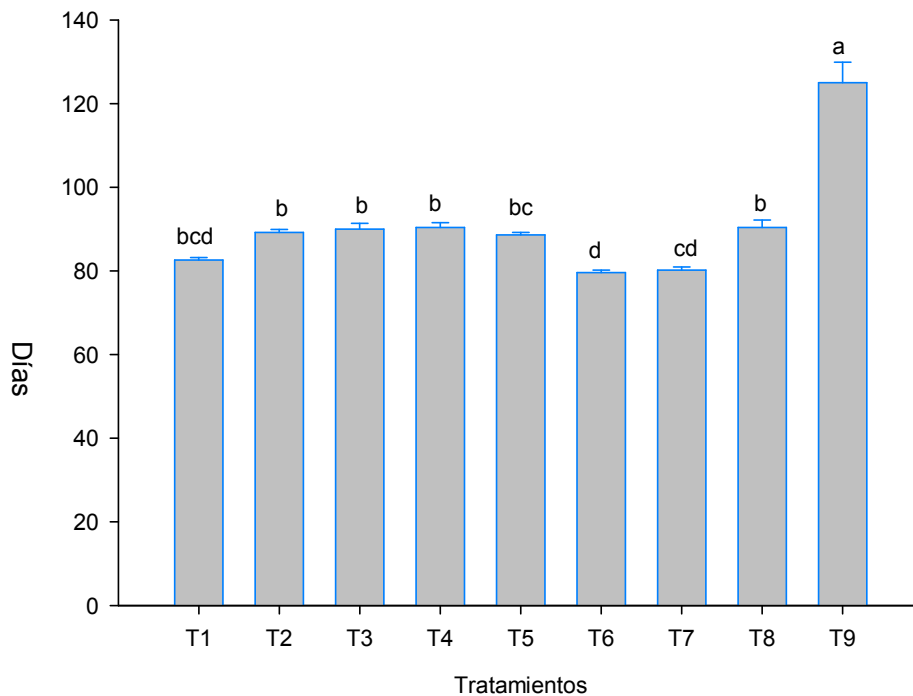
^z Medias dentro de columnas con mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey, P ≤ 0.05).
C.V.: coeficiente de variación

Esta diferencia en el inicio de la floración pudo originarse, probablemente por el estímulo de los factores en su conjunto. Debido a que al comparar los tratamientos con el testigo se muestra que aunque el testigo presentó el mayor número de botones florales permanecieron en un estado de letargo.

De esta manera acorde a los resultados obtenidos en un principio los botones florales son promovidos por la interacción de los dos primeros factores aplicados y de los cuales el más concluyente es el TDZ en una concentración baja. Con lo que sugerimos que además de promover la diferenciación el TDZ, tiene propiedades para estimular la brotación de las yemas reproductivas. En datos obtenidos por Wang *et al.*, (1986) en un estudio del efecto del TDZ sobre los cambios metabólicos en botones de manzana durante el rompimiento del letargo mostraron que thidiazurón tiene la capacidad de liberación de la latencia de las yemas laterales.

De las medias obtenidas para cada tratamiento sobresalen estadísticamente similares como los más precoces 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %, 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % y 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % con 79.6, 80.2 y 82.6 días, respectivamente (Figura 7).

Por otro lado es evidente que el nitrato de potasio también tiene un efecto positivo, acelerando la brotación de los botones florales lo que resulta en una floración más temprana. En el estado de Veracruz se demostró experimentalmente que las aspersiones de KNO₃ adelantan la floración del mango 'Manila', logrando adelantar 37 días con respecto a la floración normal (Avitia-García y Castillo-González, 2007).



T1: 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %; **T2:** 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %; **T3:** 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %; **T4:** 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %; **T5:** 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %; **T6:** 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %; **T7:** 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %; **T8:** 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %. **T9:** Testigo.

Figura 7. Días a la aparición de la primera flor

5.5 DIÁMETRO DE FLOR

En general durante el periodo de evaluación de esta variable, el botón floral comienza a abrir en flor a los 9 días y hasta los quince días se alcanza una apertura total, posteriormente comienza la senescencia de la flor. Los resultados obtenidos muestran que los tratamientos 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 % y 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 % estadísticamente similares entre ellos abren sus flores más rápido ya que sus

flores tienen un diámetro mayor (81.84 y 84.46 mm respectivamente) a los 9 días y el tratamiento 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % significativamente el de menor diámetro de flor con 50.9 mm en el mismo tiempo indica que hay una apertura lenta (Cuadro 7).

Cuadro 7. Comportamiento del diámetro de flor (mm) en azalea ‘Estrella’ con diferentes tratamientos estimulantes de la floración.

TRATAMIENTOS	MUESTREOS				
	3 días	6 días	9 días	12 días	15 días
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	11.14 a ^z	35.94 a	62.04 ab	80.92 abc	85.04 ab
10 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	9.54 a	31.66 ab	70.98 ab	79.86 abc	85.2 ab
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2%	7.86 a	34.92 a	50.9 b	69.84 c	87.92 a
10 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	9.8 a	40.3 a	61.74 ab	82.9 ab	84.42 abc
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 2 %	12.94 a	47.08 a	76.38 ab	80.08 abc	82.12 abc
13 °C + TDZ 50 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	12.18 a	45.94 a	81.84 a	83.98 ab	86.26 ab
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de Potasio 2 %	12.1 a	37.6 a	71.86 ab	75.14 bc	78.14 c
13 °C + TDZ 100 mg·l ⁻¹ + nitrato de potasio 4 %	12.28 a	43.96 a	84.46 a	88.06 a	88.48 a
Testigo	12.94 a	18.86 b	69.9 ab	75.58 bc	80.88 bc
C. V.	21.90	20.47	18.12	6.85	3.89

^z Medias dentro de columnas con mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey, P≤ 0.05).
C.V.: coeficiente de variación

Con los datos obtenidos en este estudio podemos determinar que a partir de que los pétalos son visibles en el botón, se tiene un periodo de 15 días para que la planta se comercialice y que cuando llegue la planta al consumidor final la flor este en las mejores condiciones.

Los tratamientos junto con el testigo alcanzan más del 50 % de apertura de la flor a los nueve días y tratamientos como el 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 %, 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 %, 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 % y 13 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % logran alrededor del 90 % de apertura de la flor (Figura 8). Así de forma general se muestra que la apertura total de la flor logra su plenitud a los quince días.

El periodo de desarrollo de la flor coincide con el último factor aplicado, el nitrato de potasio, por lo que inferimos que este produce un estímulo que acelera dicho proceso, coincidiendo con Quijada (1999) que al evaluar el efecto de diferentes dosis y número de aplicaciones de nitrato de potasio en mango expresó que el nitrato adelantó la floración en unos 38 días con respecto al testigo. Para este caso en particular observamos que las dos concentraciones de nitrato de potasio respondieron de forma similar en el desarrollo de apertura de la flor.

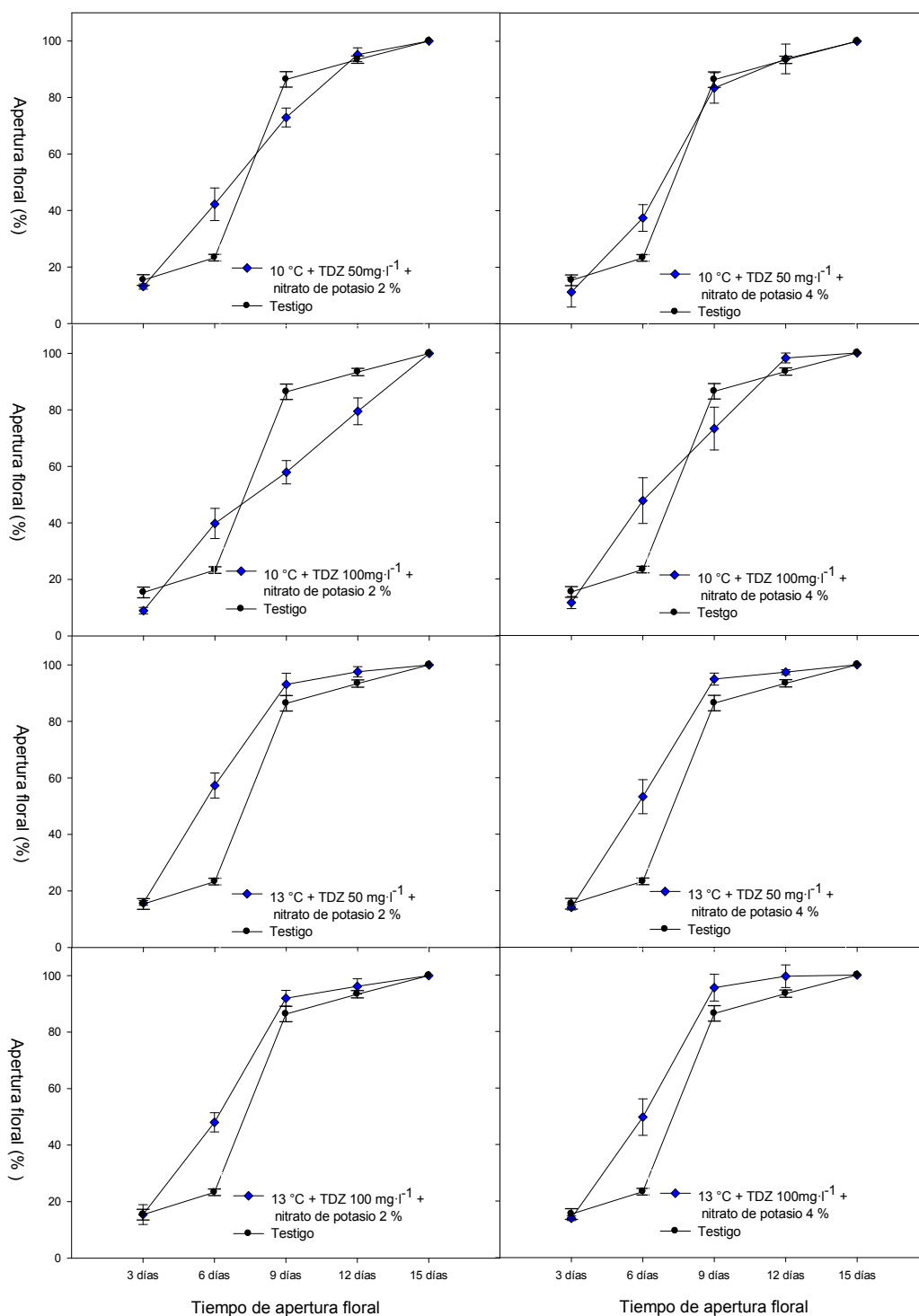


Figura 8. Dinámica de la apertura de flores (%) en azalea 'Estrella' con diferentes tratamientos estimulantes de floración.

En los tratamientos con 10 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % y 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 4 % significativamente son los que tuvieron el diámetro de flor más grande con respecto al tratamiento 13 °C + TDZ 100 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2 % siendo este el de menor tamaño en cuanto a diámetro de flor. Los resultados obtenidos (Cuadro 7) expresan que el diámetro final de la flor está determinado por las características genéticas de la planta.

Los pétalos se desarrollan de un primordio de células en división, que se produce en el meristemo floral en respuesta a la actividad de genes de identidad de órganos. Así el tamaño final de los pétalos y por lo tanto de la flor, es un factor de la combinación de la cantidad de división y expansión celular que ocurre durante el desarrollo de cada órgano (Glover, 2007).

5.6 PROCESO DE DIFERENCIACIÓN FLORAL

El desarrollo de la flor de azalea se describe desde la iniciación hasta la apertura del botón, identificándose etapas de acuerdo al desarrollo morfológico evidente. De acuerdo a lo observado se identifican ocho estados de desarrollo (Figura 9). El ápice vegetativo, por ejemplo, puede ser considerado como el estado cero o designado como vegetativo.

Considerando que a los 17 días después del establecimiento del experimento (DDE) se observó la diferenciación floral en las plantas testigo mostrando primordios florales, mientras que las plantas que están en condiciones de frío la diferenciación floral apenas se ha iniciado. Esto nos indica que las plantas al momento de establecer el experimento ya estaban inducidas a floración, y que el efecto del factor temperatura provoca un retraso en la diferenciación floral.

Kohl y Sciaroni (1956) mencionaron que el número promedio de días de la poda a iniciación es de 45 días en azalea variedad Rose Queen, lo cual concuerda con nuestro estudio ya que el periodo establecido entre la poda y el inicio del experimento es de 54 días.

Se observó que de la diferenciación floral a botones florales visibles son requeridas aproximadamente 2 semanas, por lo que se comenzaron a observar botones florales en los testigos a partir de los 32 DDE, mientras que en los tratamientos se presentó un retraso de alrededor de 15 días más, comenzando a observarse botones a partir de los 47 DDE. Durante este periodo las partes individuales de las flores son desarrolladas en un orden convencional: cáliz, corola, estambre y pistilos. De acuerdo a lo observado se determina que son necesarias alrededor de cuatro semanas para que se puedan desarrollar las partes florales, lo cual concuerda con Criley (1985) quien estableció que se requieren de 4 a 6 semanas para el desarrollo de las partes florales.

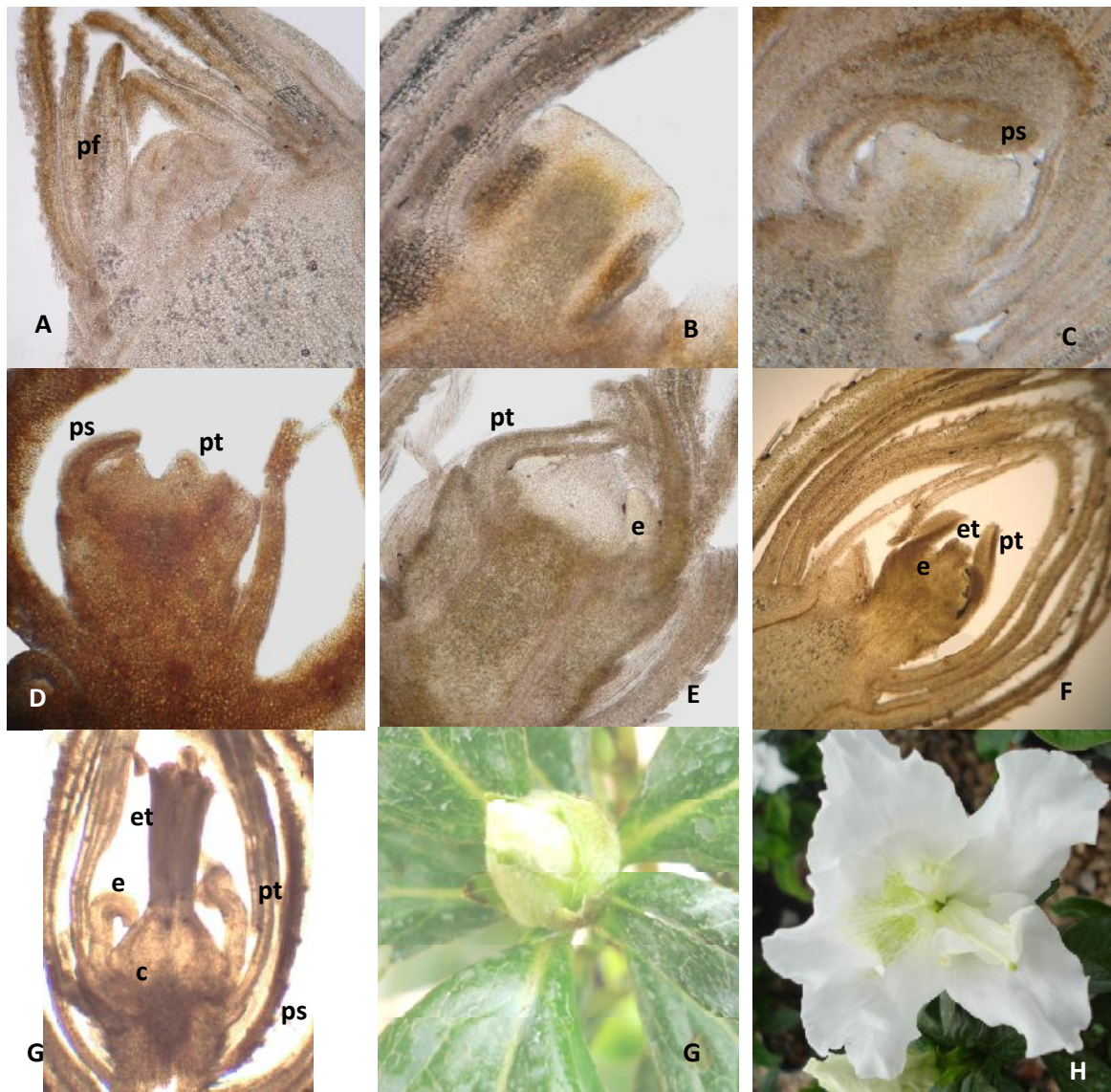


Figura 9. Iniciación y diferenciación floral en azalea cv. Estrella, del tratamiento 10 °C + TDZ 50 mg·l⁻¹ + nitrato de potasio 2%. A: Estado 0= Meristemo vegetativo, mostrando primordios foliares (pf). B: Estado 1= Iniciación floral, se observa el levantamiento del domo. C: Estado 2= Iniciación de primordios florales, mostrando primordios de sépalos (ps). D: Estado 3= Iniciación de pétalos (pt). E: Estado 4= Iniciación de estambres (e). F: Estado 5= Iniciación del estilo (et). G: Estado 6= Estilo alargado y carpelos desarrollados (c). G: Estado 7= Botones muestran color. H: Estado 8= Floración completa.

Continuando con el desarrollo del proceso de floración se observó que a los 52 DDE en las plantas testigo los carpelos se han desarrollado y el estilo se ha alargado más que los estambres. Mientras que en los tratamientos esta etapa de desarrollo se comienza a observar 10 días después es decir a los 62 DDE.

Una vez que los botones florales están desarrollados, Larson (2004) mencionó que estos entran en un periodo de latencia y la floración no ocurre a menos que se supere dicho estado. Correspondiendo así con los resultados obtenidos en este estudio en particular donde los botones florales de las plantas testigo no mostraron presencia de flores durante el periodo de evaluación, es decir que permanecieron en estado de latencia. Mientras que los tratamientos mostraron tener un efecto positivo en la floración ya que, se comenzaron a observar flores a partir de los 79 DDE. Sin embargo, no se mostró una floración completa, lo cual podría ser explicado en base a que para tener una floración completa todos los botones deben ser iniciados y desarrollados simultáneamente (Kohl y Sciaroni, 1956)

VI. CONCLUSIONES

1. La concentración de $100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de TDZ promueve mayor brotación, por lo que el tratamiento $10^\circ\text{C} + \text{TDZ } 100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1} + \text{nitrato de potasio } 2\%$ presentó mayor número de brotes secundarios y terciarios.
2. El desarrollo de botones florales se vio afectado por la temperatura. Así, las plantas testigo mostraron botones florales primero y posteriormente en los tratamientos, determinando que la temperatura del invernadero favorece el desarrollo floral mientras que temperaturas de 10 y 13°C retrasan el proceso.
3. El mayor número de flores acumuladas se observó dentro de los tratamientos con una concentración de TDZ de $50 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, lo cual sugiere un efecto positivo del TDZ en concentraciones bajas, participando en la diferenciación floral.
4. El nitrato de potasio favorece el rompimiento del estado de letargo del botón floral, promoviendo un adelanto de la floración alrededor de 45.4 días con respecto al testigo.
5. Se identificaron ocho estados morfológicos en el proceso de desarrollo de la flor de azalea, desde un estado vegetativo hasta una flor abierta.

VII. LITERATURA CITADA

- AINSWORTH, C. 2006. Flowering and its Manipulation. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK. 326 p.
- ALMAGUER V., G. 1988. Principios de Fruticultura. Mundi-Prensa. Tercera Edición. México, D. F.
- AUKERMAN, M.; AMASINO, R. 1998. Floral induction and florigen. The Plant Cell 93: 491-494.
- AUSÍN, I.; ALONSO-BLANCO, C.; MARTÍNEZ-ZAPATER, J. M. 2005. Environmental regulation of flowering. Int. J. Dev. Biol. 49: 689-705.
- AVITIA-GARCÍA, E.; CASTILLO-GONZÁLEZ, A. M. 2007. Desarrollo Floral en Frutales. Universidad Autónoma Chapingo. Primera edición. Chapingo, Estado de México, Mexico, 142 p.
- BEN-TAL, Y. 1986. Flowering: its control by vegetative growth inhibition. Acta Horticulturae 179: 329-335.
- BERNIER, G.; HAVELANGE, A.; HOUSSA, C.; PETITJEAN, A.; LEJEUNE, P. 1993. Physiological Signals that Induce flowering. The Plant Cell 5: 1147-1155.
- BERNIER, G.; KINET, J. M.; SACHS, R. M. 1981. The physiology of flowering. Vol. I. The initiation of flowers. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA. 149.
- BERNIER, G.; PÉRILLEUX, C. 2005. A physiological overview of the genetics of flowering time control. Plant Biotechnology Journal 3: 3-16.

- BEVERIDGE, C. A.; ROSS, J. J.; MURFET, I. C. 1992. Mutant influences dry matter distribution, assimilate partitioning and flowering in *Lathyrus odoratus* L. Journal of Experimental Botany 43(246): 55-62.
- BIELENIN, M.; MATYSIAK B. 2004. Effect of nutrition on growth and flower bud formation of Rhododendron cultivated on ebb and flow benches. Folia Horticulturae 16(1):101-105.
- BLÁZQUEZ, M. A.; GREEN, R.; NILSSON, O.; SUSSMAN, M. R.; DETLEF WEIGELA, D. 1998. Gibberellins promote flowering of Arabidopsis by activating the LEAFY promoter. Plant Cell 10: 791-800.
- CALIFORNIAN PLANT HEALTH ASSOCIATION (CPHA). 2008. Manual de los Fertilizantes para Cultivos de Alto Rendimiento. Editorial LIMUSA. D. F., México, 380 p.
- CAPELLE, S. C.; MOK, D W. S.; KIRCHNER, S. C.; MOK, M. C. 1983. Effects of thidiazuron on cytokinin autonomy and the metabolism of N⁶-(A²-Isopentenyl) [8-¹⁴C] adenosine in callus tissues of *Phaseolus lunatus* L. Plant Physiology 73: 796-802.
- CÁRDENAS, K.; ROJAS, E. 2003. Efecto del paclobutrazol y los nitratos de potasio y calcio sobre el desarrollo del mango 'Tommy Atkins'. Bioagro 15(2): 83-90.
- CORBESIER, L.; PRINSEN, E.; JACQMARD, A.; LEJEUNE, P.; VAN ONCKELEN, H.; PEÂRILLEUX, C.; BERNIER, G. 2003. Cytokinin levels in leaves, leaf exudate and shoot apical meristem of Arabidopsis thaliana

during floral transition. *Journal of Experimental Botany* 54(392): 2511-2517.

CRILEY, R. A. 1985. Rhododendrons and Azaleas, pp. 180-197. *In*: Handbook of flowering vol. 5. HALEVY, A. H. (ed.). CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA.

DAVENPORT, T. L.; NUÑEZ-ELISEA, R. 1990. Ethylene and other endogenous factors possibly involved in mango flowering. *Acta Hort.* 275: 441-448.

DAY, J. S.; LOVEYS, B. R.; ASPINALL, D. 1995. Cytokinin and carbohydrate changes during flowering of *Boronia megastigma*. *Aust. J. Plant Physiol.* 22: 57-65.

EDWARDS, G. R. 1986. Ammonia, arginine, polyamines and flower initiation in apple. *Acta Hort.* 179: 363-364.

ERWIN, J. 2007. Factors affecting flowering in ornamental plants, pp. 7-49. *In*: Flower Breeding and Genetics. Anderson, N. O. (ed). Springer. Dordrecht, The Netherlands.

FLETCHER, J. C. 2002. Shoot and floral meristem maintenance in *Arabidopsis*. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 53: 45-66.

GLOVER, B. J. 2007. Understanding flowers and flowering. Primera edición. Oxford University Press Inc., New York, USA. 239 p.

HALLIDAY, K. J.; SALTER, M. G.; THINGNAES, E.; C. WHITELAM, G. C. 2003. Phytochrome control of flowering is temperature sensitive and correlates with expression of the floral integrator FT. *The Plant Journal* 33: 875-885.

- HARADA, H.; NITSH, J. P. 1959. Changes in endogenous growth substances during flower development. *Plant Physiology* 34(4): 409-415.
- HAVELANGE, A.; BERNIER, G. 1993. Cation fluxes in the saps of *Sinapis alba* during the floral transition. *Physiologia Plantarum* 87: 353-358.
- HE, Y. W.; LOH C. S. 2002. Induction of early bolting in *Arabidopsis thaliana* by triacontanol, cerium and lanthanum is correlated with increased endogenous concentration of isopentyl adenosine (iPA_{dos}). *Journal of Experimental Botany* 53: 505–512.
- HEALEVY, A. H. 1985. Handbook of flowering. Vol. 4. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. Pp. 180-197.
- HENDERSON, I.R.; SHINDO, C.; DEAN, C. 2003. The need for the winter in the switch to flowering. *Ann. Rev. Genet.* 37: 371-392.
- HONG VU, N.; HOANG ANH, P.; TAN NHUT, D. 2006. The role of sucrose and different cytokinins in the *in vitro* floral morphogenesis of rose (hybrid tea) cv. 'First Prize'. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 87:315–320
- IZUMI, K.; NAKAGAWA, S.; KOBAYASHI, M.; OSHIO, H.; SAKURAI, A.; TAKAHASHI, N. 1988. Levels of IAA, Cytokinins, ABA and ethylene in rice plants as affected by a gibberellin biosynthesis inhibitor, uniconazole-P. *Plant Cell Physiol.* 29(1): 97-104.
- JACKSON, D. I.; SWEET, G. B. 1972. Flower initiation in temperate woody plants. *Horticultural Abstracts* 42: 9-29.
- JAVIER-GARCÍA, O.; DUEÑEZ, E. Y.; FISCHER, G.; CHAVES, B.; OMAR CAMILO QUINTERO, O. C. 2008. Efecto del nitrato de potasio, fosfato de

- potasio y ethephon en la inducción floral de la feijoa o goiabeira serrana *Acca sellowiana* [O. Berg] Burret). *Revista Brasileira de Fruticultura* 30(3): 577-584.
- KINET, J. M. 1993. Environmental, chemical and genetic control of flowering. *Horticultural Reviews* 15: 279-334.
- KING, R. W.; EVANS, L. T. 1991. Shoot apex sugars in relation to long-day induction of flowering in *Lolium temulentum* L. *Australian Journal of Plant Physiology* 18(2): 121 – 135.
- KOHL, H. C.; SCIARONI, R. H. 1956. Bud initiation of Azaleas. *California Agriculture* 10(5): 15.
- LANDSBERG, J. J.; THORPE, M.R. 1975. The Mechanisms of apple bud morphogenesis: Analysis and a model. *Ann. Bot.* 39: 689-99.
- LARSON, R. A. 2004. Azaleas, pp. 211-233. *In*: Introducción a la floricultura. LARSON, R. A. (ed). AGT Editor, S.A. D. F., México.
- LEE, I. J.; FOSTER, K. R.; MORGAN, P. W. 1998. Photoperiod control of gibberellin levels and flowering in *Sorghum*. *Plant Physiol.* 116: 1003–1011.
- LEVY, Y. Y.; DEAN, C. 1998. The transition to flowering. *The Plant Cell* 10: 1973–1989.
- MEDFORD, J. I.; HORGAN, R.; EL-SAWI, Z.; HARRY J. KLEE, H. J. 1989. Alterations of endogenous cytokinins in transgenic plants using a chimeric Isopentenyl transferase gene. *The Plant Cell* 1: 403-413.

- MOK, M. C.; MOK, D. W. S.; ARMSTRONG, D. J.; SHUDO, K.; ISOGAI, Y.; OKAMOTO, T. 1982. Cytokinin activity of N-phenyl-N'-1, 2,3-thiadiazol-5-ylurea (thidiazuron). *Phytochemistry* 21(7): 1509-1511.
- OKAMURO, J. K.; W. DEN BOER, B. G.; JOFUKUA, K. D. 1993. Regulation of *Arabidopsis* flower development. *The Plant Cell*. 5: 1183-1193.
- ÖPIK, H.; ROLFE, S. A. 2005. The physiology of flowering plants. Cuarta edición. Cambridge University Press, New York, USA, 404 p.
- PERILLEUX, C.; BERNIER, G. 2002. The control of flowering: do genetical and physiological approaches converge?, 1-26. *In: Plant reproduction*. O'NEILL, S. D.; ROBERTS, J. A.(eds). CRC Press, Boca Raton, USA.
- PROTACIO, C. M. 2000. A model for potassium nitrate-induced flowering in mango. *Acta Hort*. 509: 545-552.
- QUIJADA, O. 1999. Efecto de la aplicación de tres dosis de nitrato de potasio y el número de aplicaciones sobre la floración del mango Haden en la planicie de Maracaibo. *Rev. Fac. Agron.* 16: 414-424.
- ROBERTS, N. J.; LUCKMAN, G. A.; MENARY, R. C. 1993. *In vitro* flowering of *Boronia megastigma* Nees. and the effect of 6-benzylaminopurine. *Journal of Plant Growth Regulation* 12(3): 117-122.
- RUDALL, P. J. 2007. Anatomy of flowering plants. Tercera Edición. Cambridge University Press, New York, USA. 159 p.

- SIVORI, M. E. 1980. Desarrollo reproductivo. In. SIVORI, M. E.; E. R. MONTALDI. (Editores). Fisiología vegetal. Hemisferio Sur, Argentina pp. 561-599
- SUTTLE, J. C. 1985. Involvement of ethylene in the action of the cotton defoliant Thidiazuron. *Plant Physiol.* 78: 272-276.
- TAYLOR, N. J.; LIGHT, M. E.; VAN STADEN, J. 2005. *In vitro* flowering of *Kniphofia leucocephala*: influence of cytokinins. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 83: 327–333.
- VISSER, C.; QURESHI, J. A.; GILL, R.; SAXENA, P.K. 1992. Morphoregulatory role of thidiazuron. *Plant Physiol.* 99: 1704-1707.
- WANG, G. Y.; YUAN, M. F.; HONG, Y. 2002. *In vitro* induction in roses. *In vitro Cell Dev. Biol. Plant.* 38: 513–518.
- WANG, G. Y.; XU, Z. H.; CHIA, T. F.; CHUA, N. H. 1993. *In vitro* flowering of orchid (*Dendrobium candidum*). *Science in China Series C: Life Sciences* 40(1): 35-42.
- WANG, S. Y.; JI, Z. L.; FAUST, M. 1987. Metabolic changes associated with bud break induced by thidiazuron. *Journal of Plant Growth Regulation* 6(2): 85-95.
- WAREING, P. F.; PHILLIPS, I. D. J. 1981. Growth and differentiation in plants. 3ed. Pergamon Press. New York, USA, 343 p.
- YAMAGUCHI, S.; KAMIYA, Y. 2000. Gibberellin biosynthesis: Its regulation by endogenous and environmental signals. *Plant Cell Physiol.* 41(3): 251-257.

ZHENG, B.; DENG, Y.; MU, J.; JI, Z.; XIANG, T.; NIU, Q-W.; CHUA, N-H.; ZUO, J. 2006. Cytokinin affects circadian-clock oscillation in a phytochrome B- and Arabidopsis response regulator 4-dependent manner. *Physiologia Plantarum* 127: 277-292.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Cuadrados medios y significancia para altura de planta en azalea cv. Estrella.

FV	GL	MUESTREOS					
		15 DDE	30 DDE	45 DDE	60 DDE	75 DDE	90 DDE
T	1	0.576 NS	0.064 NS	0.361 NS	0.2250 NS	0.07225 NS	0.93025 NS
C	1	0.676 NS	0.529 NS	0.841 NS	3.4810 NS	3.78225 NS	4.03225 NS
K	1	0.961 NS	0.961 NS	0.144 NS	1.7640 NS	0.87025 NS	0.50625 NS
T*C	1	2.116 NS	2.304 NS	1.936 NS	0.9610 NS	0.50625 NS	0.00025 NS
T*K	1	0.049 NS	0.196 NS	0.001 NS	0.0160 NS	0.00625 NS	0.04225 NS
C*K	1	0.121 NS	0.001 NS	0.001 NS	0.4000 NS	0.30625 NS	0.07225 NS
T*C*K	1	0.025 NS	0.324 NS	0.064 NS	0.4840 NS	0.18225 NS	1.89225 NS
ADICIONAL	0	0	0	0	0	0	0
FACTvsADI	1	15.047 *	28.561 *	41.3444 *	24.8587 *	23.1547 *	6.7514 NS
ERROR	36	1.2442	1.3680	1.2478	1.1511	1.1871	4.1784

Anexo 2. Cuadrados medios y significancia de la variable número de brotes por planta en azaleas cv. Estrella.

FV	GL	BROTOS SECUNDARIOS			BROTOS TERCARIOS		
		MUESTREOS					
		60 DDE	75 DDE	90 DDE	60 DDE	75 DDE	90 DDE
T	1	49.2840*	51.0760NS	178.0840NS	1.5603*	196.2490*	810.0000*
C	1	3.9690NS	790.3210*	837.2250*	0.0003NS	524.1760*	968.2560*
K	1	0.4000NS	1.5210NS	60.0250NS	0.4203NS	48.8410NS	213.4440NS
T*C	1	0.1000NS	73.9840NS	72.9000NS	1.6403*	0.2560NS	36.8640NS
T*K	1	0.0490NS	92.4160NS	160.0000NS	0.4203NS	2.2090NS	16.9000NS
C*K	1	6.7240NS	5.3290NS	5.9290NS	0.0003NS	97.3440NS	2.1160NS
T*C*K	1	24.0250*	24.3360NS	0.0360NS	0.3803NS	51.9840NS	1.4440NS
ADICIONAL	0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
FACTvsADI	1	5.9290NS	1551.6854*	4073.6694*	2.1623*	485.8090*	1117.9537*
ERROR	36	4.0064	54.8123	62.0529	0.2847	31.5890	51.5519

Anexo 3. Cuadrados medios y significancia de la variable comportamiento de la floración: número de botones florales por planta en azalea cv. Estrella.

FV	GL	MUESTREOS						
		64 DDE	71 DDE	73 DDE	76 DDE	79 DDE	83 DDE	86 DDE
T	1	0.0250NS	0.5063NS	1.0563NS	1.4063NS	0.7563NS	1.0563NS	3.0250NS
C	1	9.0250*	1.0563NS	1.4063NS	2.2563NS	3.3063NS	2.2563NS	3.0250NS
K	1	0.6250NS	0.0563NS	0.7563NS	1.0563NS	0.0063NS	0.0063NS	0.1000NS
T*C	1	2.0250*	0.7563NS	1.4063NS	2.2563NS	1.4063NS	1.0563NS	0.4000NS
T*K	1	0.6250NS	0.0063NS	0.0563NS	0.5063NS	0.5063NS	0.5063NS	0.2250NS
C*K	1	0.6250NS	1.4063NS	1.4063NS	0.3063NS	0.7563NS	0.5063NS	0.6250NS
T*C*K	1	0.6250NS	0.0563NS	0.5063NS	1.8063NS	2.7563NS	2.7563NS	0.4000NS
ADICIONAL	0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
FACTvsADI	1	23.0027*	23.7674*	22.2507*	18.9063*	22.7507*	25.8674*	27.7777*
ERROR	36	0.1778	0.5056	0.5111	0.6667	0.8389	0.9000	1.0528

Anexo 4. Cuadrados medios y significancia de la variable comportamiento de la floración: número de flores por planta en azaleas cv. Estrella.

FV	GL	MUESTREOS						
		79 DDE	82 DDE	85 DDE	88 DDE	91 DDE	95 DDE	97 DDE
T	1	4.2250*	0.9000*	0.6250NS	0.9000NS	0.6250NS	3.0250NS	4.2250*
C	1	0.0250NS	1.6000*	2.0250*	4.9000*	9.0250*	7.2250*	5.6250*
K	1	0.0250NS	0.9000*	2.0250*	2.5000*	1.2250NS	2.0250NS	1.2250NS
T*C	1	0.0250NS	0.9000*	2.0250*	4.9000*	7.2250*	4.2250*	7.2250*
T*K	1	0.0250NS	1.6000*	2.0250*	2.5000*	4.2250*	2.0250NS	0.6250NS
C*K	1	4.2250*	0.9000*	0.6250NS	0.1000NS	0.0250NS	0.0250NS	0.0250NS
T*C*K	1	4.2250*	10.0000*	13.2250*	0.8266NS	4.2250*	1.2250NS	0.0250NS
ADICIONAL	0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
FACTvsADI	1	0.4694*	1.1111*	1.4694*	10.6777*	17.3361*	21.0250*	25.0694*
ERROR	36	0.0556	0.0889	0.1444	0.3889	0.6222	0.7778	0.8444

Anexo 5. Cuadrados medios y significancia para la variable días de aparición de la primera flor en azalea cv. Estrella.

FV	GL	Cuadrados medios
T	1	112.2250
C	1	75.6250
K	1	42.0250
T*C	1	24.0250
T*K	1	21.0250
C*K	1	105.6250
T*C*K	1	403.2250
ADICIONAL	0	0
FACTvsADI	1	6630.6250
ERROR	36	18.1000

Anexo 6. Cuadrados medios y significancia para diámetro de flor (mm) en azalea cv. Estrella con diferentes tratamientos estimulantes de la floración.

FV	GL	MUESTREOS				
		3 DÍAS	6 DÍAS	9 DÍAS	12 DÍAS	15 DÍAS
T	1	77.8410*	630.4360*	4028.0490*	117.9923NS	35.9103NS
C	1	8.8360NS	9.2160NS	984.0640*	49.5063NS	0.0723NS
K	1	0.0360NS	24.9640NS	1442.4010*	519.1203*	77.5623*
T*C	1	3.2490NS	227.5290NS	514.0890NS	32.2203NS	9.3123NS
T*K	1	0.5290NS	10.6090NS	228.4840NS	14.5203NS	198.4703*
C*K	1	12.5440NS	184.0410NS	261.1210NS	334.6623*	4.0323NS
T*C*K	1	4.2250NS	2.9160NS	0.6760NS	16.2563NS	60.7623*
ADICIONAL	0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
FACTvsADI	1	9.7351NS	1925.6187*	0.7111NS	90.7014NS	64.7703*
ERROR	36	5.9577	58.5099	197.1238	29.7483	10.7854

Anexo 7. Azaleas dentro de cámaras frías con iluminación artificial.



Anexo 8. Aplicación de thidiazurón en concentraciones de 50 y 100 mg·l⁻¹ de acuerdo al tratamiento correspondiente.



Anexo 9. Aplicación foliar de nitrato de potasio a concentraciones de 2 y 4 % en azalea cv. Estrella

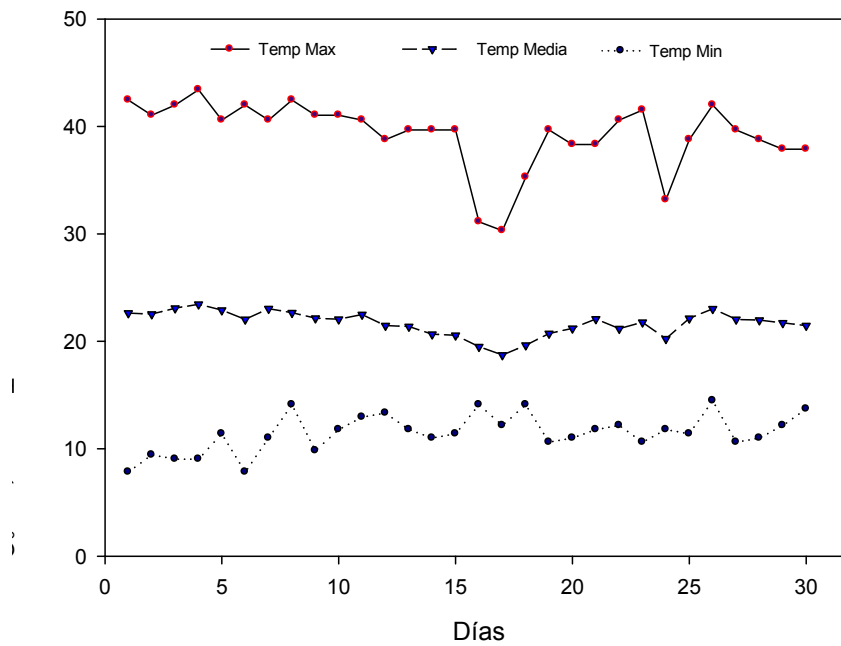


Anexo 10. Metodología para obtención de cortes anatómicos de ápice de brotes de azaleas, con el micrótomoma de congelamiento.

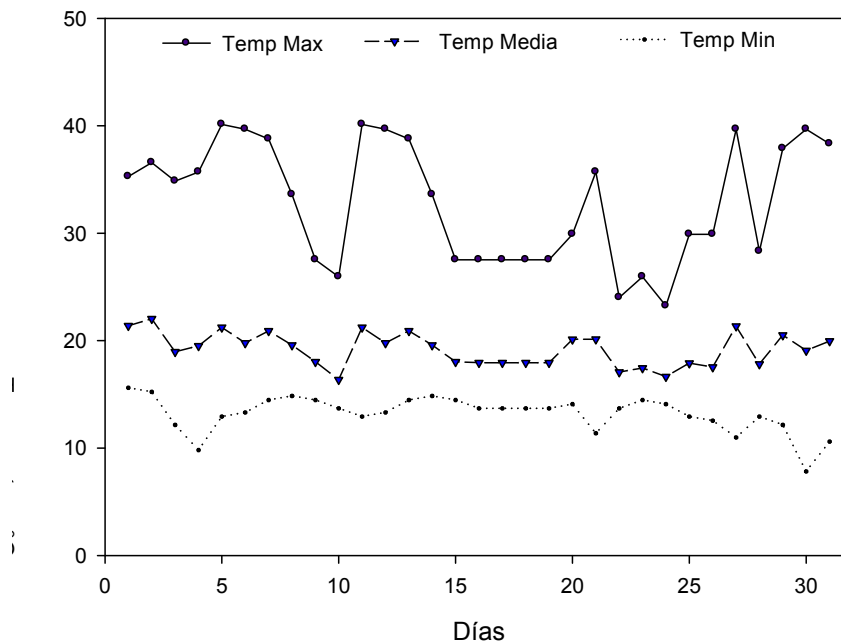


Preparación de la muestra, de un tamaño no mayor a 1 cm³ (A). Ajuste del tamaño de corte en micras (B). Congelamiento de la muestra (C). Cortes de la muestra congelada (D). Corte de un ápice congelado (E). Colecta de los cortes de ápice obtenidos.

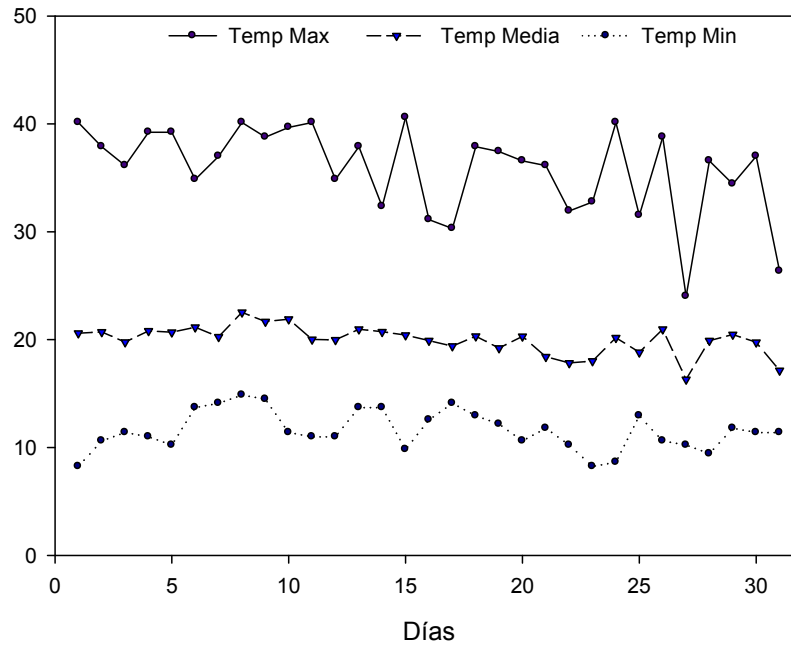
Anexo 11. Temperatura Máxima (Max), Media y Mínima (Min) en el invernadero durante el mes de junio del 2010.



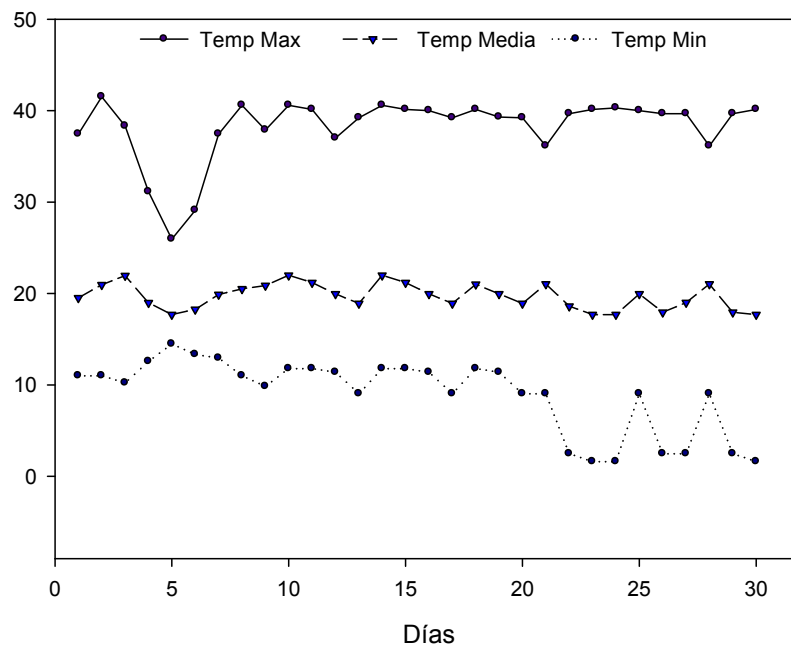
Anexo 12. Temperatura Máxima (Max), Media y Mínima (Min) en el invernadero durante el mes de julio del 2010.



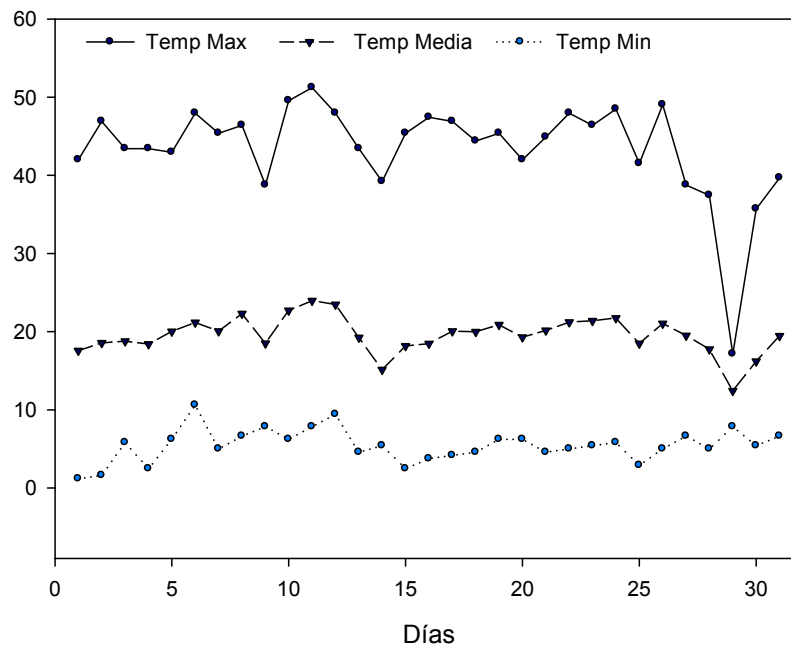
Anexo 13. Temperatura Máxima (Max), Media y Mínima (Min) en el invernadero durante el mes de agosto del 2010.



Anexo 14. Temperatura Máxima (Max), Media y Mínima (Min) en el invernadero durante el mes de septiembre del 2010.



Anexo 15. Temperatura Máxima (Max), Media y Mínima (Min) en el invernadero durante el mes de octubre del 2010.



Anexo 16. Temperatura Máxima (Max), Media y Mínima (Min) en el invernadero durante el mes de Noviembre del 2010.

