

Reguladores de crecimiento en mango: su relación con carbohidratos número y tamaño de células*

Mango growth regulators: their relationship with carbohydrates number and size of cells

María Hilda Pérez Barraza^{1§}, Raquel Cano Medrano², Edilberto Avitia García³, María Alejandra Gutiérrez Espinosa², Yolanda Nolasco González¹ y Tomás Osuna Enciso⁴

¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Carretera Internacional México-Nogales km 6, Santiago Ixcuintla, Nayarit, México. CP. 63300. Tel. 55 38718700, ext. 84416. ²Colegio de Postgraduados-RGP-Fruticultura. Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Estado de México, México. CP. 56230. Tel. 595 9520200. (racm@colpos.mx; alexge@colpos.mx). ³Universidad Autónoma de Chapingo-Departamento de Fitotecnia. Carretera Fed. México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Estado de México, México. CP. 56230. ⁴Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Carretera El Dorado km 5.5, Col. Campo El Diez, Culiacán, Sinaloa, México. CP. 80129. (tosuna@ciad.edu.mx). [§]Autora para correspondencia: perez.mariahilda@inifap.gob.mx.

Resumen

Los reguladores de crecimiento incrementan el tamaño de fruto al modificar el patrón de distribución de fotosintatos, o al incrementar el número y tamaño de células. El objetivo fue determinar el efecto de reguladores de crecimiento en la acumulación de azúcares y en el número y tamaño de células en mango 'Ataulfo'. Los tratamientos fueron: T1 aplicación de 50 mg L⁻¹ de TDZ a 0 días después de plena floración (DDF) combinado con tres aplicaciones de AG₃ (50 mg L⁻¹) a 15+30+45 DDF. T2 correspondió a la aplicación de TDZ+AG₃ (50 mg L⁻¹ de c/u) a los 15+30+45+60 DDF. T3 Testigo. El diseño experimental fue completamente al azar, se evaluaron tres tratamientos con cuatro repeticiones y un árbol como parcela útil. Las variables evaluadas fueron: longitud y diámetro de frutos, contenido de carbohidratos, número y tamaño de células. Se logró incrementar el tamaño de fruto hasta 20% con T1 y de 23% con T2, respecto al testigo. El contenido de azúcares fue similar en los frutos con o sin regulador de crecimiento. A los 45 DDF, el número de células varió de 3 526 a 4 603 mm², T1 presentó el mayor número aunque fue estadísticamente igual al encontrado

Abstract

Growth regulators increase fruit size by modifying the distribution pattern of photosynthates, or by increasing the number and size of cells. The objective was to determine the effect of growth regulators on the accumulation of sugars and on the number and size of cells in 'Ataulfo' mango. The treatments were: T1 application of 50 mg L⁻¹ of TDZ at 0 days after full bloom (DDF) combined with three applications of AG₃ (50 mg L⁻¹) at 15 + 30 + 45 DDF. The T2 corresponded to the application of TDZ + AG₃ (50 mg L⁻¹ of c/u) at 15 + 30 + 45 + 60 DDF. The T3 Witness. The experimental design was completely randomized, three treatments with four replications and one tree as a useful plot were evaluated. The variables evaluated were fruit length and diameter, carbohydrate content, number and size of cells. It was possible to increase fruit size up to 20% with T1 and 23% with T2, with respect to the control. The sugar content was similar in fruits with or without growth regulator. At 45 DDF, the number of cells ranged from 3 526 to 4 603 mm², T1 had the highest number but was statistically equal to that found in T2. At T2 the cell size increased 30%, in relation

en T2. En T2 el tamaño de las células se incrementó 30%, con relación al testigo y 23% respecto a los frutos de T1. El incremento logrado en el tamaño de frutos partenocárpico estuvo asociado a una mayor división y elongación celular. Los frutos polinizados tuvieron células más grandes que los partenocárpico.

Palabras claves: *Mangifera indica* L., azúcares, citocininas, crecimiento de fruto, giberelinas, tamaño de células.

Introducción

Existen evidencias de que los reguladores de crecimiento incrementan el tamaño de fruto partenocárpico en mango (Ogata *et al.*, 2010; Pérez *et al.*, 2015). Diversos estudios coinciden que el incremento sucede al modificar el patrón de distribución de fotosintatos, específicamente por un aumento en la concentración de azúcares, en frutales como vid (Pérez y Gómez, 2000), pera 'Kousui' (Zhang *et al.*, 2007) y cítricos (Agusti *et al.*, 2002; Khalid *et al.*, 2012). Sin embargo, en arándano cv. Beckyblue rabbiteye, la aplicación de giberelinas (GAs) no modificó el patrón de distribución, lo que indicó que el tamaño de frutos tanto polinizados como tratados con AG₃ no dependió de la capacidad para acumular azúcares (Cano and Darnell, 1997a).

En frutales, la relación fuente-demanda se relaciona con crecimiento de fruto y productividad del cultivo (Goldschmidt, 1999). Esta relación influye también en los niveles de azúcares como glucosa, fructosa y sacarosa que son sintetizados en hojas y se mueven a través del floema hacia los órganos no fotosintéticos o demandantes de la planta, entre ellos el fruto. Desde tiempo atrás se conoce que sacarosa es el principal azúcar transportado y que su transporte por floema, depende del gradiente de concentración entre los sitios de carga y descarga (Avigad, 1982). Sacarosa una vez descargada del floema en los sitios de demanda, puede entrar en las células del fruto por dos rutas, vía simplasto a través de plasmodesmos o apoplasto vía pared celular.

En mango hay pocos trabajos sobre el contenido de carbohidratos en frutos en desarrollo. En el cultivar Irwin durante el desarrollo de fruto (90-110 días después de floración; la última fecha correspondió a madurez fisiológica) el contenido de fructosa incrementó de 12.8 mg g⁻¹ de peso fresco a 20.6 mg, después de cosecha incrementó

to the control and 23% with respect to the fruits of T1. The increase in parthenocarpic fruit size was associated with greater cell division and elongation. The pollinated fruits had larger cells than the parthenocarpic ones.

Keywords: *Mangifera indica* L., cell size, cytokinins, fruit growth, gibberellins, sugars.

Introduction

There is evidence that growth regulators increase parthenocarpic fruit size in mango (Ogata *et al.*, 2010; Pérez *et al.*, 2015). A number of studies agree that the increase occurs by modifying the distribution pattern of photosynthates, specifically by an increase in the concentration of sugars, in fruit trees such as vines (Pérez and Gómez, 2000), to 'Kousui' (Zhang *et al.*, 2007) and citrus (Agusti *et al.*, 2002; Khalid *et al.*, 2012). However, in cranberry cv. Beckyblue rabbiteye, the application of gibberellins (GAs) did not modify the distribution pattern, indicating that the size of fruits both pollinated and treated with AG₃ did not depend on the capacity to accumulate sugars (Cano and Darnell, 1997a).

In fruit trees, the source-demand relationship is related to fruit growth and crop productivity (Goldschmidt, 1999). This relationship also influences the levels of sugars such as glucose, fructose and sucrose that are synthesized in leaves and move through the phloem to non-photosynthetic or plant-demanding organs, including fruit. It has long been known that sucrose is the main sugar transported and that its transport by phloem depends on the concentration gradient between loading and unloading sites (Avigad, 1982). Sucrose once discharged from the phloem at the sites of demand, can enter the cells of the fruit by two routes, via symplastic through plasmodesmata, or via cell wall apoplast.

In mango there are few studies on carbohydrate content in developing fruits. In the Irwin cultivar during fruit development (90-110 days after flowering, the last date corresponded to physiological maturity) the fructose content increased from 12.8 mg g⁻¹ fresh weight to 20.6 mg, after harvest increased to approximately 30 mg and remained stable until maturity of consumption. The glucose content was stable between 10 mg g⁻¹ and decreased after harvest. The sucrose content was lower than glucose and fructose during development; however, after harvest until maturity of consumption showed a strong increase from 5.9 to 82 mg g⁻¹.

a aproximadamente 30 mg y permaneció estable hasta madurez de consumo. El contenido de glucosa se mantuvo estable entre 10 mg g⁻¹ y disminuyó después de cosecha. El contenido de sacarosa fue más bajo que glucosa y fructosa durante el desarrollo; no obstante, después de cosecha hasta madurez de consumo presentó un fuerte incremento de 5.9 hasta 82 mg g⁻¹.

El contenido de almidón fue alto durante el desarrollo (≈ 50 mg g⁻¹) y disminuyó después de cosecha hasta prácticamente desaparecer (Wei *et al.*, 2013). En mango 'Keitt', Bernardes *et al.* (2008) observaron acumulación de almidón durante el desarrollo del fruto y mencionan que es la fuente más probable de carbón para la síntesis de azúcares solubles. Aparentemente, glucosa y fructosa pueden ser utilizadas tanto para sintetizar almidón como para respiración. Durante el crecimiento del fruto, hay un baja cantidad de sacarosa debido a la hidrólisis de este disacárido importado de las hojas, para proporcionar el carbono demandado durante el desarrollo (Bernardes *et al.*, 2008).

La mayoría de los estudios en el contenido de carbohidratos en mango, son enfocados principalmente a poscosecha. Durante esta etapa, la degradación de almidón está altamente correlacionada con la acumulación de sacarosa, concluyendo que es el principal azúcar en mango (Castrillo *et al.*, 1992; Bernardes *et al.*, 2003; Bernardes *et al.*, 2008; Wei *et al.*, 2013).

Por otro lado, en muchos frutales la producción de células antes de floración e inmediatamente después de polinización/fecundación es el primer factor que impulsa el crecimiento temprano del fruto. Mientras que la expansión o alargamiento celular es un importante facilitador del crecimiento de órganos, un mayor crecimiento del fruto especialmente durante la etapa tardía del desarrollo es a menudo alcanzado (Johnson *et al.*, 2011).

Variaciones en tamaño de frutos está asociado con diferencias en el número y tamaño de células, frutos grandes se relacionan con un alto número de células en muchos frutos como durazno (Scorza *et al.*, 1991), fresa (Cheng y Breen, 1992), Olivo (Rapoport *et al.*, 2004), cereza (Olmstead *et al.*, 2007) y tomate (Bohner and Bangerth, 1988; Bertin *et al.*, 2003; Tanksley, 2004; Bertin *et al.*, 2009). Se demostró que los reguladores de crecimiento inducen amarre y desarrollo de frutos partenocárpicos, afectando división y alargamiento celular.

The starch content was high during development (≈ 50 mg g⁻¹) and decreased after harvest until practically disappeared (Wei *et al.*, 2013). In 'Keitt' mango, Bernardes *et al.* (2008) observed accumulation of starch during fruit development and mentioned that it is the most likely source of carbon for the synthesis of soluble sugars. Apparently, glucose and fructose can be used both to synthesize starch and to breathe. During fruit growth, there is a low amount of sucrose due to the hydrolysis of this disaccharide imported from the leaves, to provide the carbon demand during development (Bernardes *et al.*, 2008).

Most studies on carbohydrate content in mango, are mainly focused on postharvest. During this stage, starch degradation is highly correlated with sucrose accumulation, concluding that it is the main mango sugar (Castrillo *et al.*, 1992; Bernardes *et al.*, 2003; Bernardes *et al.*, 2008; Wei *et al.*, 2013).

On the other hand, in many fruit trees the production of cells before flowering and immediately after pollination/fertilization is the first factor that drives the early growth of the fruit. While cell expansion or elongation is an important facilitator of organ growth, increased fruit growth especially during the late stage of development is often achieved (Johnson *et al.*, 2011).

Fruit size is associated with differences in cell number and size, large fruits are related to a high number of cells in many fruits such as peach (Scorza *et al.*, 1991), strawberry (Cheng and Breen, 1992), olive (Rapoport *et al.*, 2004), cherry (Olmstead *et al.*, 2007), and tomato (Bohner and Bangerth, 1988; Bertin *et al.*, 2003; Tanksley, 2004; Bertin *et al.*, 2009). In the present study, the results obtained in the present study are shown in Fig. It was shown that growth regulators induce mooring and development of parthenocarpic fruits, affecting cell division and elongation.

In cranberry cv. Beckyblue differences in the final size of pollinated fruits and parthenocarpic fruits treated with AG₃ were due to cell length rather than to cell numbers (Cano and Darnell, 1997b). In Sultana grape the application of AG₃ (45 mg L⁻¹) eight days after flowering increased the size of seedless fruits by increasing cell division and lengthening (Pérez and Gómez, 2000). While in 'Kousui' pear an increase in fruit size was in response to the exogenous application of AG₃₊₄ and was associated with an increase in the size of mesocarp cells (Zhang *et al.*, 2006).

En arándano cv. Beckyblue las diferencias en el tamaño final de frutos polinizados y frutos partenocárpicos tratados con AG₃, fueron debidas al alargamiento celular más que al número de células (Cano y Darnell, 1997b). En vid ‘Sultana’ la aplicación de AG₃ (45 mg L⁻¹) ocho días después de floración incrementaron el tamaño de frutos sin semilla al incrementar división y alargamiento celular (Pérez y Gómez, 2000). Mientras que en pera ‘Kousui’ un incremento en tamaño de fruto fue en respuesta a la aplicación exógena de AG₃₊₄ y estuvo asociado con un incremento en el tamaño de células del mesocarpio (Zhang *et al.*, 2006).

En frutos de mango, no existen a la fecha trabajos al respecto y menos aún en frutos partenocárpicos de ‘Ataulfo’. Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de reguladores de crecimiento en la acumulación de azúcares y en el número y tamaño de células en frutos de mango ‘Ataulfo’.

Material y métodos

El estudio se realizó en 2014 en Atonalisco, municipio de Tepic, Nayarit (21° 18’ latitud norte y 104° 53’ longitud oeste, 450 msnm). Se seleccionó un huerto comercial de mango ‘Ataulfo’/criollo regional, con 80% de incidencia de frutos partenocárpicos (PRT). Los árboles fueron de 8 años establecidos a 5 × 5 m entre hilera y árbol, respectivamente. El huerto se manejó con riego por gravedad (uno cada mes a partir de febrero hasta abril), poda (despunte de aproximadamente 50 cm y eliminación de ramas centrales) y fertilización con 2 kg de Triple 17 por árbol al inicio de la temporada de lluvias (junio) y 2 kg de fertilizante orgánico (gallinaza) por árbol aplicado en septiembre

Se evaluaron tres tratamientos. En el tratamiento 1, se aplicó 50 mg L⁻¹ de TDZ a los 0 días después de plena floración (DDF) combinado con tres aplicaciones de AG₃ a los 15+30+45 DDF. El tratamiento 2 correspondió a la aplicación de TDZ+AG₃ (50 mg L⁻¹ de c/u) a los 15+30+45+60 DDF. Se utilizó un testigo. Trabajos anteriores indicaron que estas dosis incrementaron el tamaño de fruto (Pérez *et al.*, 2015). Las aspersiones se efectuaron a punto de goteo entre 8:00 - 10:00 am mediante bombas aspersoras motorizadas. Como fuente de TDZ se utilizó el producto comercial Revent[®] y para el AG₃ se utilizó Progibb[®]. Se usó 1 mL L⁻¹ de agua de surfactante (Inex[®]) y urea foliar al 1% como

In mango fruits, there are currently no papers on this subject and even less on ‘Ataulfo’ parthenocarpic fruits. Therefore, the objective of the present study was to determine the effect of growth regulators on the accumulation of sugars and on the number and size of cells in ‘Ataulfo’ mango fruits.

Materials and methods

The study was conducted in 2014 at Atonalisco, municipality of Tepic, Nayarit (21° 18’ north latitude and 104° 53’ west longitude, 450 meters above sea level). A commercial orchard of ‘Ataulfo’/regional creole mango was selected, with 80% incidence of parthenocarpic fruits (PRT). Trees were 8 years old set at 5 × 5 m between row and tree, respectively. The orchard was managed with gravity irrigation (one each month from February to April), pruning (about 50 cm pruning and elimination of central branches) and fertilization with 2 kg of Triple 17 per tree at the beginning of the rainy season (June) and 2 kg of organic fertilizer (manure) per tree applied in september

Three treatments were evaluated. In treatment 1, 50 mg L⁻¹ of TDZ was applied at 0 days after full bloom (DDF) combined with three applications of AG₃ at 15+30+45 DDF. Treatment 2 corresponded to the application of TDZ + AG₃ (50 mg L⁻¹ of c/u) at 15+30+45+60 DDF. A control was used. Previous studies indicated that these doses increased fruit size (Pérez *et al.*, 2015). The sprays were made at the point of drip between 8:00 am; 10:00 am by means of motorized spray pumps. The commercial Revent[®] product was used as TDZ source and Progibb[®] was used for AG₃. The 1 mL L⁻¹ of surfactant water (Inex[®]) and 1% leaf urea was used as a penetrating agent. The control was sprinkled with water + surfactant and urea, the pH of the solutions was adjusted to 5.8 with hydrochloric acid (HCl).

The variables evaluated were: length and diameter of fruits sampled, carbohydrate content and cell number and size.

Length and diameter of fruit. The fruit length and diameter were recorded every 15 days, starting from stage I of slow growth of the fruit (15 DDF) until stage III corresponding to an accelerated growth of the same (105 DDF, physiological maturity). For this, four inflorescences per tree were selected and up to four parthenocarpic fruits were marked for each inflorescence, only one of them was measured. It was evaluated using a digital vernier (Control Company).

penetrante. El testigo se asperjó con agua + surfactante y urea, el pH de las soluciones se ajustó a 5.8 con ácido clorhídrico (HCl).

Las variables evaluadas fueron: longitud y diámetro de frutos muestreados, contenido de carbohidratos y número y tamaño de célula.

Longitud y diámetro de fruto. Se registró la longitud y diámetro de fruto cada 15 días, iniciando a partir de etapa I de lento crecimiento del fruto (15 DDF) hasta etapa III que corresponde a un crecimiento acelerado del mismo (105 DDF, madurez fisiológica). Para ello, se seleccionaron cuatro inflorescencias por árbol y se marcaron hasta cuatro frutos partenocárpicos por cada inflorescencia, solamente uno de ellos fue medido. Se evaluó utilizando un vernier digital (Control Company).

Determinación de carbohidratos. En cada tratamiento, se realizaron muestreos de frutos a los 15, 30, 45, 60, 90 y 105 días después de plena floración (DDF), el último muestreo se realizó al momento de la cosecha (madurez fisiológica). En el primer muestreo se tomaron 10 frutillos de cada repetición (aproximadamente 5 g), en los muestreos posteriores se tomaron dos frutos partenocárpicos y dos polinizados por repetición y en el muestreo final, un fruto de cada uno por repetición. Estos fueron transportados en hielera al laboratorio. De cada fruto se tomó una muestra de aproximadamente 5 g de pulpa de la parte media del fruto, las muestras tanto de frutos partenocárpicos como polinizados, se homogeneizaron por separado y se formaron cuatro repeticiones por cada tratamiento y fueron almacenadas a -20 °C hasta su análisis.

Siguiendo la metodología utilizada por Cano y Darnell (1997a), con ligeras modificaciones, de cada tipo de fruto y repetición se tomó 1 g de pesos fresco (pf) de pulpa, por separado y fue molido con nitrógeno líquido. Para la extracción se utilizó etanol al 80% (10 mL) a ebullición por 2 min. Se agregó 100 mg de manitol como un estándar interno. El extracto se centrifugó a 3 000 rpm y el sobrenadante fue decantado y el residuo fue re-extraído dos veces más. Al sobrenadante se le agregó cloroformo (3 mL), se centrifugó a 2 000 rpm durante 3 min a 4 °C. La fase acuosa se rescató y fue secada al vacío, resuspendida con agua y pasada a través de resinas de intercambio iónico (Dowex-1 y Dowex-50). El sobrenadante final fue secada al vacío, resuspendido con agua grado HPLC y filtrado a través de un filtro con malla de 0.45 µm.

Determination of carbohydrates. At each treatment, fruit samples were collected at 15, 30, 45, 60, 90 and 105 days after full bloom (DDF), the last sampling was performed at harvest (physiological maturity). In the first sampling, 10 fruit of each repetition (approximately 5 g) were taken, in the subsequent samplings two parthenocarpic fruits were taken and two pollinated by repetition and in the final sampling, one fruit of each one by repetition. These were transported in icebox to the laboratory. From each fruit a sample of approximately 5 g of pulp was taken from the middle part of the fruit, samples of both parthenocarpic and pollinated fruits were separately homogenized and four replicates were formed for each treatment and stored at -20 °C their analysis.

Following the methodology used by Cano and Darnell (1997a), with slight modifications, of each type of fruit and repetition was taken 1 g of fresh weights (pf) of pulp, separately and was ground with liquid nitrogen. For the extraction, 80% ethanol (10 mL) was used at boiling for 2 min. 100 mg of mannitol was added as an internal standard. The extract was centrifuged at 3000 rpm and the supernatant was decanted and the residue was re-extracted twice more. Chloroform (3 mL) was added to the supernatant, centrifuged at 2 000 rpm for 3 min at 4 °C. The aqueous phase was rescued and dried under vacuum, resuspended with water and passed through ion exchange resins (Dowex-1 and Dowex-50). The final supernatant was vacuum dried, resuspended with HPLC grade water and filtered through a 0.45 µm mesh filter.

The content of glucose, sucrose and fructose was determined by HPLC (High Performance Liquid Chromatography). The sample was injected into a Bio-Rad HPLC (Cambridge, MA), using a Bio-Rad Aminex® HPX-87C cation exchange column with the following measurement conditions: flow 0.6 mL min⁻¹, column temperature 80 °C, detection cell temperature 45 °C and mobile phase, HPLC grade water. A volume of 20 µm was injected.

Size and number of cells. In the same treatments, parthenocarpic fruits were sampled at 15, 30 and 45 days after full bloom (DDF). At each sampling stage, three fruits per replicate were taken for a total of 12 fruits per treatment. Only in the 45 DDF stage were 12 parthenocarpic fruits and 12 pollinated by treatment. In the first sampling the fruits were immediately placed in FAA (10% (v/v) formaldehyde, 5% glacial acetic acid, 50% 100% ethanol and 35% distilled water). In the following samples a portion of epicarp + mesocarp was taken from the middle part of the fruit and fixed in FAA in the same manner as in the first

El contenido de glucosa, sacarosa y fructosa se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución HPLC (por sus siglas en inglés). La muestra fue inyectada dentro de un Bio-Rad HPLC (Cambridge, MA), se utilizó una columna de intercambio catiónico Bio-Rad Aminex[®] HPX-87C con las siguientes condiciones de medición: flujo 0.6 mL min⁻¹, temperatura en columna 80 °C, temperatura de celda de detección 45 °C y fase móvil, agua grado HPLC. Se inyectó un volumen de 20 µL.

Tamaño y número de células. En los mismos tratamientos, se realizaron muestreos de frutos partenocárpicos a los 15, 30 y 45, días después de plena floración (DDF). En cada etapa de muestreo se tomaron tres frutos por repetición para un total de 12 frutos por tratamiento. Solo en la etapa de 45 DDF se muestrearon 12 frutos partenocárpicos y 12 polinizados por tratamiento. En el primer muestreo los frutos fueron colocados inmediatamente en FAA (10% (v/v) de formaldehído, 5% ácido acético glacial; 50% etanol al 100% y 35% agua destilada). En los siguientes muestreos se tomó una porción de epicarpo + mesocarpo de la parte media del fruto y se fijaron en FAA de la misma manera que en el primer muestreo. Las muestras fueron deshidratadas en series graduales de alcohol y xilol para terminar con xilol 100%. Posteriormente se fijaron en parafina a 60 °C. Se realizaron cortes anatómicos (8 µm) usando un micrótopo rotatorio (American Optical, USA), los cortes fueron teñidas con safranina y verde fijo.

El número y tamaño se determinó usando microscopia (Stereomaster digital zoom high-resolution microscope; Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) y proyección de imagen tomada de la sección transversal del fruto (40X). Para el número de células, se delimitó un área de 15 mm² en cada una de los cortes, utilizando el software ImageTool ver 3 y se contó el número de células proyectando la imagen. El área de la sección transversal del fruto se calculó midiendo el diámetro del mismo y utilizando la ecuación para el área de una elipse. Para calcular el número de células del área transversal del fruto se utilizó la fórmula usada por Cano y Darnell (1997b).

Para determinar el tamaño se consideró el área delimitada (15 mm²) y se midieron 20 células del mesocarpo (cerca de exocarpo) en cada sección, utilizando el software ImageTool 3.0. El área de la sección transversal fue determinada midiendo el diámetro de la célula en dos direcciones y usando la ecuación para el área de una elipse ($\text{Área} = \pi ab$; siendo a y b los semiejes mayor y menor de la elipse).

sampling. The samples were dehydrated in a gradual series of alcohol and xylol to finish with 100% xylol. They were then fixed in paraffin at 60 °C. Anatomical sections (8 µm) were made using a rotating microtome (American Optical, USA), the cuts were stained with safranin and fixed green.

The number and size was determined using microscopy (Stereomaster digital zoom high-resolution microscope; Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) and image projection taken from the cross section of the fruit (40X). For the number of cells, an area of 15 mm² was delimited in each of the cuts, using the software ImageTool ver 3 and counting the number of cells projecting the image. The cross-sectional area of the fruit was calculated by measuring the diameter of the fruit and using the equation for the area of an ellipse. The formula used by Cano and Darnell (1997b) was used to calculate the number of cells in the cross-sectional area of the fruit.

To determine the size, the delimited area (15 mm²) was considered and 20 mesocarp cells (near exocarp) were measured in each section, using ImageTool 3.0 software. The cross-sectional area was determined by measuring the diameter of the cell in two directions and using the equation for the area of an ellipse ($\text{Area} = \pi ab$, where a and b are the major and minor half-axes of the ellipse).

A completely randomized experimental design was used, three treatments were evaluated with four replicates and one tree as a useful plot.

Analysis of variance by sampling date and multiple comparisons of means were performed according to the Tukey test at a $p \leq 0.05$. The SAS program version 9.2 was used (SAS, 2008).

Results

Size of fruit

In all treatments, fruit size (length and diameter) in stage I was less than 1 cm. In stage II of fast growth (45 DDF), the fruit length of T1 was 5.1 cm and in fruits of T2 the length was 5.3 cm, being statistically equal to the previous treatment (Figure 1a). The control fruits had a length of 4.1 cm. In the final stage of growth (stage III), the length was 6.8 and 7.2 cm in treatments T1 and T2, respectively; in control fruits

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, se evaluaron tres tratamientos con cuatro repeticiones y un árbol como parcela útil.

Se llevaron a cabo análisis de varianza por fecha de muestreo y comparaciones múltiples de medias de acuerdo a la prueba de Tukey a una $p \leq 0.05$. Se utilizó el programa SAS versión 9.2 (SAS, 2008).

Resultados

Tamaño de fruto

En todos los tratamientos, el tamaño del fruto (longitud y diámetro) en la etapa I, fue menor a 1 cm. En la etapa II de rápido crecimiento (45 DDF), la longitud de frutos de T1 fue de 5.1 cm y en frutos de T2 la longitud fue de 5.3 cm, siendo estadísticamente igual al tratamiento anterior (Figura 1a). Los frutos testigos presentaron un longitud de 4.1 cm. En la etapa final de crecimiento (etapa III), la longitud fue de 6.8 y 7.2 cm en los tratamientos T1 y T2, respectivamente; en frutos testigo fue de 5.1 cm. A los 105 DDF, el diámetro varió de 3.4 en el testigo), a 4.9 en T2 (Figura 1b), el testigo presentó los frutos de menor tamaño.

Acumulación de azúcares

En frutos partenocárpicos no hubo diferencias significativas entre tratamientos en el contenido de sacarosa y glucosa en las primeras etapas de desarrollo (15, 30 y 45 DDF), a excepción de fructosa. En frutos con una aplicación de TDZ (50 mg L^{-1}) cero DDF + tres aplicaciones de AG_3 a los 15+30+45 DDF (T1), el contenido de fructosa fue de 1.03 mg g^{-1} de peso fresco (pf) a los 15 días DDF, disminuyó a 30 y 45 días, se mantuvo ligeramente alto de 60 y disminuyó a 105 DDF (Figura 2A). En frutos con aplicación de TDZ+ AG_3 (50 mg L^{-1} de c/u) a los 15+30+45+60 DDF (T2), el contenido a los 15 DDF fue de 0.5 mg g^{-1} de pf, a los 30 DDF fue de 0.73 mg g^{-1} de pf y se mantuvo estable a los 60 y 105 DDF. En frutos testigo, el contenido se mantuvo en $\approx 0.8 \text{ mg g}^{-1}$ de pf durante el desarrollo de fruto a excepción de 45 DDF que presentó un contenido de 0.6 mg g^{-1} de pf (Figura 2a).

El contenido de glucosa se mantuvo estable entre 0.2 y 0.3 mg g^{-1} de pf durante las primeras etapa de desarrollo y disminuyó a los 60 y 105 DDF, el comportamiento fue igual entre tratamientos (Figura 2b). En todos los tratamientos,

was 5.1 cm. At 105 DDF, the diameter varied from 3.4 in the control), to 4.9 in T2 (Figure 1b), the control presented the smallest fruits.

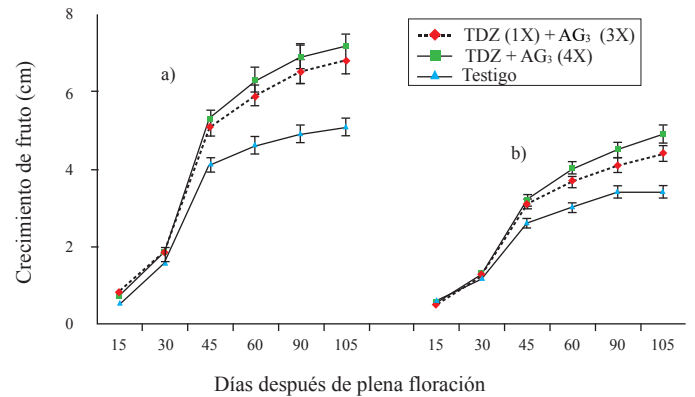


Figura 1. Longitud (a) y diámetro (b) de frutos partenocárpicos con y sin aplicación de regulador de crecimiento. 1X= una aplicación a 0 DDF; 3X= tres aplicaciones a 15+30+45 DDF; 4X= cuatro aplicaciones a 15+30+45+60. Las barras en cada punto representan el promedio de 16 frutos por tratamiento \pm error estándar.

Figure 1. Length (a) and diameter (b) of parthenocarpic fruits with and without application of growth regulator. 1X= an application at 0 DDF; 3X= three applications at 15 + 30 + 45 DDF; 4X= four applications at 15 + 30 + 45 + 60. The bars at each point represent the average of 16 fruits per treatment \pm standard error.

Accumulation of sugars

In parthenocarpic fruit there were no significant differences between sucrose and glucose treatments in the early stages of development (15, 30 and 45 DDF), except for fructose. In fruits with an application of TDZ (50 mg L^{-1}) DDF + three applications of AG_3 at 15 + 30 + 45 DDF (T1), the fructose content was 1.03 mg g^{-1} fresh weight (pf) at 15 days DDF, decreased at 30 and 45 days, remained slightly higher at 60 and decreased at 105 DDF (Figure 2A). In fruits with application of TDZ + AG_3 (50 mg L^{-1} of c/u) at 15 + 30 + 45 + 60 DDF (T2), the content at 15 DDF was 0.5 mg g^{-1} of pf, at the 30 DDF was 0.73 mg g^{-1} pf and remained stable at 60 and 105 DDF. In control fruits, the content remained at $\approx 0.8 \text{ mg g}^{-1}$ of pf during fruit development with the exception of 45 DDF which had a content of 0.6 mg g^{-1} of pf (Figure 2a).

The glucose content remained stable between 0.2 and 0.3 mg g^{-1} of pf during the early developmental stage and decreased at 60 and 105 DDF, the behavior was equal between treatments (Figure 2b). In all treatments, sucrose

sacarosa mantuvo a niveles estables en su contenido durante 15, 30 y 45 DDF ($< 0.1 \text{ mg g}^{-1}$ de pf), para incrementar a partir de los 60 DDF, hasta alcanzar su máximo contenido a los 105 DDF (mostrando diferencias significativas entre tratamientos en esta etapa ($Pr=0.004$ a 60 DDF y $Pr\leq 0.0001$ a los 105 días). En la última etapa el contenido varió de 1.6, 1.9 y 2 mg g^{-1} de pf, para T1, T2 y T3, respectivamente, T2 y T3 fueron estadísticamente iguales con un alto contenido de sacarosa, respecto a T1 (Figura 2c).

En frutos polinizados, los resultados fueron muy similares a los encontrados en frutos partenocárpico (Figura 2a, 2b, y 2c). No hubo diferencias significativas entre tratamientos, ni entre época de muestreo. El contenido de glucosa varió de 0.3 mg g^{-1} de pf en las primeras etapas para disminuir a los 60 y 105 DDF. Fructosa presentó diferencias entre tratamientos en las etapas muestreadas. Sacarosa se mantuvo en niveles menores a 0.1 mg g^{-1} de pf a los 15, 30 y 45 DDF, posteriormente se incrementó a partir de 60 DDF de aproximadamente 0.5 mg g^{-1} de pf hasta 1.5, 1.6 y 2 mg g^{-1} a los 105 DDF en los tratamientos T1, T2 y T3, respectivamente, mostrando diferencias significativas entre tratamientos ($Pr\leq 0.004$) en esta última etapa.

Número y tamaño de células

Quince días después de floración, los frutos tratados con una aplicación de TDZ (50 mg L^{-1}) a cero DDF + tres aplicaciones de AG_3 a los 15+30+45 DDF (T1) tuvieron 772 células en un área de 15 mm^2 , el resto de los tratamientos tuvo ≈ 549 y 474 células (Figura 3). A los 30 DDF el número varió de 2 878 a 3 262 células mm^{-2} , el mayor número correspondió a T1 pero estadísticamente no fue diferente a T2 ni testigo. A los 45 DDF, el número de células varió de 3 526 a 4 603 mm^2 , T1 presentó el mayor número aunque fue estadísticamente igual al encontrado en T2, pero T3 mostró en menor número de células. Desde los 15 y hasta los 45 días el T1 numéricamente fue superior pero estadísticamente solo a los 45 DDF fue diferente al testigo.

Se observó una variación en el tamaño de la célula, incrementándose conforme el desarrollo del fruto. A 15 DDF, el tamaño de las células fue entre 10 mil μm^2 en frutos tratados con una aplicación de TDZ a cero DDF + tres aplicaciones de AG_3 a 15+30+45 DDF (T1), y 15 mil μm^2 en los tratados con cuatro aplicaciones de TDZ+ AG_3 a 15+30+45+60 DDF (T2) y en testigo (Figura 4). A 30 DDF, el mayor tamaño correspondió T2 (25 mil μm^2), T1 y T3 tuvieron un tamaño de 15 y 18 mil μm^2 , respectivamente. El tamaño

maintained stable levels in its contents during 15, 30 and 45 DDF ($< 0.1 \text{ mg g}^{-1}$ of pf), to increase from 60 DDF until reaching its maximum content at 105 DDF ($Pr=0.004$ to 60 DDF and $Pr\leq 0.0001$ at 105 days). In the last stage the content varied from 1.6, 1.9 and 2 mg g^{-1} of pf, for T1, T2 and T3, respectively, T2 and T3 were statistically equal with a high sucrose content, compared to T1 (Figure 2c).

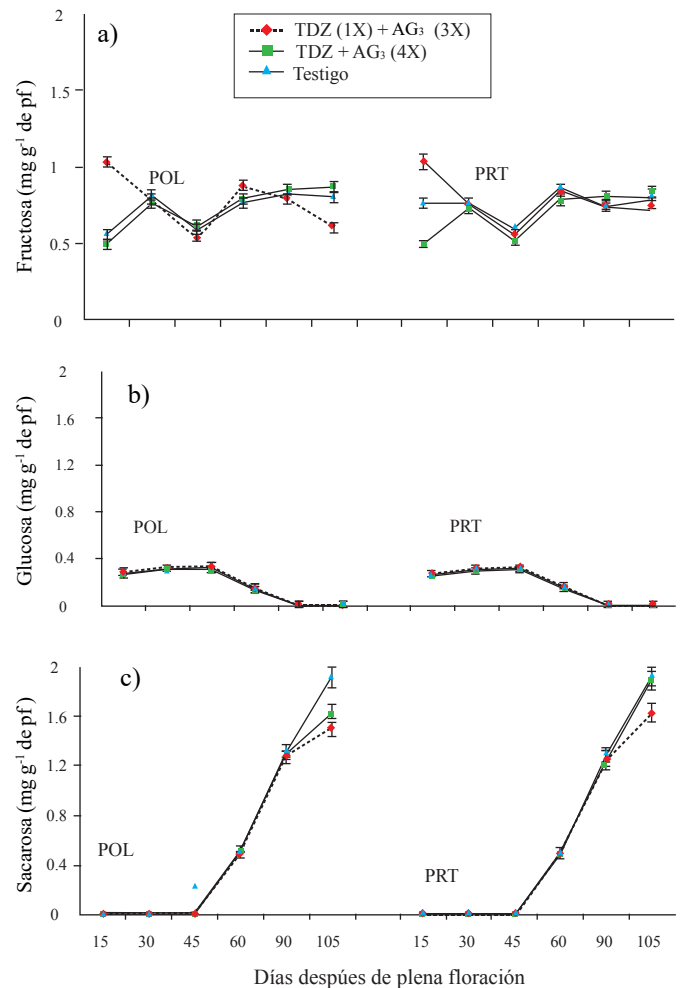


Figura 2. Contenido de fructosa (a), glucosa (b) y sacarosa (c) en frutos partenocárpico (PRT) y polinizados (POL) de mango 'Ataulfo'. 1X= una aplicación a 0 DDF; 3X= tres aplicaciones a 15+30+45 DDF; 4X= cuatro aplicaciones a 15+30+45+60 DDF. Las barras en cada punto representan el promedio de cuatro repeticiones por tratamiento \pm error estándar.

Figure 2. Content of fructose (A), glucose (B) and sucrose (C) in parthenocarpic fruits (PRT) and pollinated (POL) mango 'Ataulfo'. 1X=an application at 0 DDF; 3X=three applications at 15+30+45 DDF; 4X= four applications at 15+30+45+60 DDF. The bars at each point represent the average of four replicates per treatment \pm standard error.

incrementó vigorosamente a los 45 DDF de 76, 84 en T3 hasta 108 mil μm^2 en frutos de T2, T2 presentó las células más grandes seguido por T1; no obstante, este último tratamiento no fue significativamente diferente al testigo. En esta misma fecha, el tamaño de células en frutos polinizados varió entre 134 y 147 mil μm^2 (Figura 5). Frutos partenocárpico con cuatro aplicaciones de TDZ + AG₃ a 15+30+45+60 DDF, tuvieron células de 108 mil μm^2 y los polinizados con la misma aplicación de regulador tuvieron células de 147 mil μm^2 .

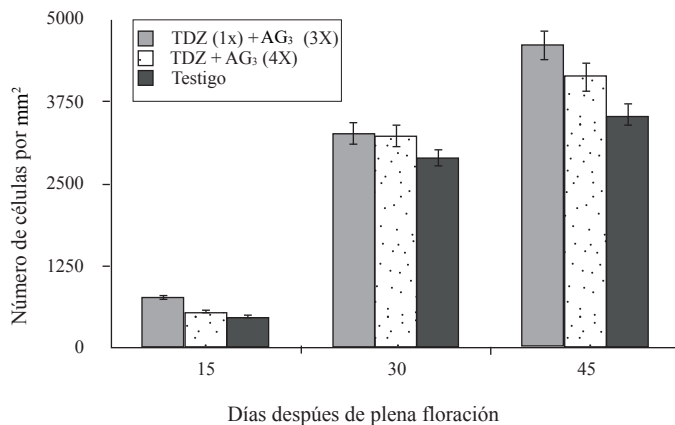


Figura 3. Número de células de la sección transversal del mesocarpo de frutos partenocárpico en desarrollo de mango 'Ataulfo'. 1X= una aplicación a 0 DDF; 3X= tres aplicaciones a 15+30+45 DDF; 4X= cuatro aplicaciones a 15+30+45+60 DDF. Las barras en columna representan el promedio de 12 secciones por tratamiento \pm error estándar.

Figure 3. Number of cells of the cross section of the mesocarp of parthenocarpic fruits in 'Ataulfo' mango development. 1X= an application at 0 DDF; 3X= three applications at 15 + 30 + 45 DDF; 4X= four applications at 15 + 30 + 45 + 60 DDF. Column bars represent the average of 12 sections per treatment \pm standard error.

Discusión

Los reguladores de crecimiento incrementaron el tamaño de frutos partenocárpico tanto en longitud como diámetro. Se logró un incremento de 20% con T1 y de 23% con T2, respecto a la longitud de frutos sin regulador (T3). En frutales, de acuerdo a varios autores, el aumento en tamaño es debido a que los reguladores incrementan la fuerza

In pollinated fruits, the results were very similar to those found in parthenocarpic fruits (Figure 2a, 2b, and 2c). There were no significant differences between treatments, nor between sampling times. The glucose content ranged from 0.3 mg g⁻¹ of pf in the early stages to decrease to 60 and 105 DDF. Fructose presented differences between treatments in the sampled stages. Sucrose was maintained at levels below 0.1 mg g⁻¹ of pf at 15, 30 and 45 DDF, subsequently increased from 60 DDF of about 0.5 mg g⁻¹ to pf 1.5 to 1.6 and 2 mg g⁻¹ to 105 DDF in treatments T1, T2 and T3, respectively, showing significant differences between treatments ($P \leq 0.004$) in this last stage.

Number and size of cells

Fifteen days after flowering, fruits treated with a TDZ application (50 mg L⁻¹) at zero DDF + three applications of AG₃ at 15 + 30 + 45 DDF (T1) had 772 cells in an area of 15 mm², the rest of the treatments had \approx 549 and 474 cells (Figure 3). At 30 DDF the number varied from 2 878 to 3 262 cells mm⁻², the largest number corresponded to T1 but statistically it was not different from T2 or control. At 45 DDF, the number of cells ranged from 3 526 to 4 603 mm², T1 had the highest number but was statistically equal to that found at T2, but T3 showed lower numbers of cells. From 15 to 45 days T1 was numerically superior but statistically only at 45 DDF was different from the control.

A variation in the size of the cell was observed, increasing as the fruit developed. At 15 DDF, the cell size was between 10 thousand μm^2 in fruits treated with a TDZ application at zero DDF + three applications of AG₃ at 15 + 30 + 45 DDF (T1), and 15 thousand μm^2 in those treated with four TDZ + AG₃ applications at 15 + 30 + 45 + 60 DDF (T2) and in control (Figure 4). At 30 DDF, the largest size corresponded to T2 (25 thousand μm^2), T1 and T3 had a size of 15 and 18 thousand μm^2 , respectively. The size increased vigorously at 45 DDF of 76, 84 in T3 up to 108 thousand μm^2 in fruits of T2, T2 presented the largest cells followed by T1; however, this latter treatment was not significantly different from the control. At the same time, the size of cells in pollinated fruits varied between 134 and 147 thousand μm^2 (Figure 5). Parthenocarpic fruits with four applications of TDZ + AG₃ at 15 + 30 + 45 + 60 DDF, had cells of 108 thousand μm^2 and the pollinated ones with the same application of regulator had cells of 147 thousand μm^2 .

de la demanda modificando el patrón de distribución de fotosintatos (Pérez y Gómez, 2000; Agusti *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2007; Khalid *et al.*, 2012).

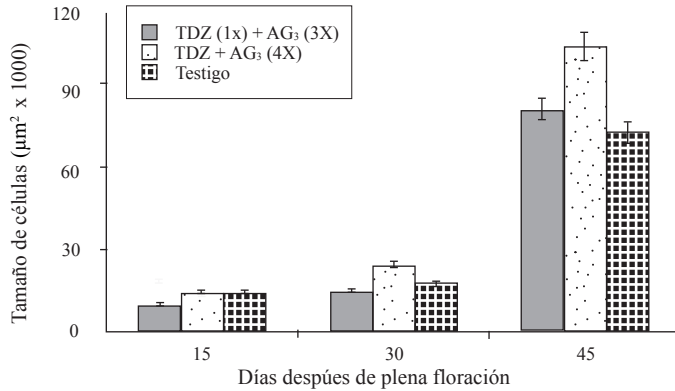


Figura 4. Tamaño de células de la sección transversal del mesocarpio de frutos partenocárpicos en desarrollo de mango 'Ataulfo'. 1X= una aplicación a 0 DDF; 3X= tres aplicaciones a 15+30+45 DDF; 4X= cuatro aplicaciones a 15+30+45+60 DDF. Las barras en columna representan el promedio de 20 células por tratamiento \pm error estándar.

Figure 4. Cell size of the cross section of the mesocarp of parthenocarpic fruits in 'Ataulfo' mango development. 1X= an application at 0 DDF; 3X= three applications at 15+30+45 DDF; 4X= four applications at 15+30+45+60 DDF. Column bars represent the average of 20 cells per treatment \pm standard error.

Los resultados de este estudio no coinciden con los reportes anteriores, ya que el contenido de azúcares fue similar a los frutos sin regulador de crecimiento, por lo que en mango 'Ataulfo' el tamaño logrado en frutos partenocárpicos no estuvo en función de la acumulación de azúcares; lo que, coinciden con los resultados encontrados por Cano y Darnell (1977a) donde el tamaño de frutos de arándano tanto polinizados como tratados con AG₃ no dependió de la capacidad para acumular azúcares. Lo anterior indica que la respuesta de la distribución de los fotosintatos está en función del tipo de fruto y la especie.

En frutos polinizados y partenocárpicos, glucosa mostró bajo contenido durante las primeras etapas de desarrollo y descendió en la etapa de rápido crecimiento de fruto, mientras que fructosa permaneció ligeramente inestable durante todo el crecimiento, mostrando niveles ligeramente más altos que glucosa. Los resultados coinciden con los obtenidos en mango 'Irwin' por Wei *et al.* (2013) y

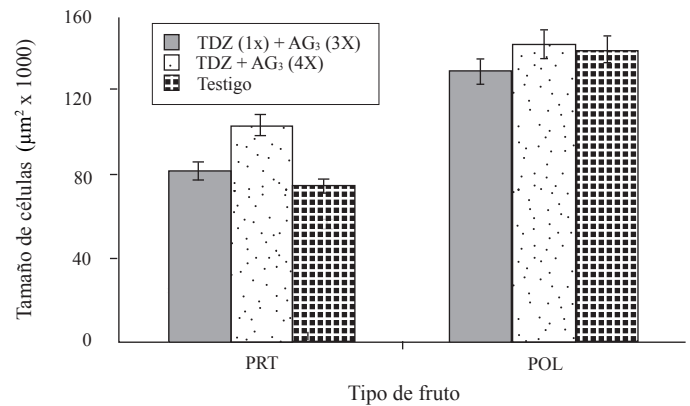


Figura 5. Tamaño de células de la sección transversal del mesocarpio de frutos partenocárpico y polinizados de mango 'Ataulfo', 45 días DDF. 1X= una aplicación a 0 DDF; 3X= tres aplicaciones a 15+30+45 DDF; 4X= cuatro aplicaciones a 15+30+45+60 DDF. Las barras en columna representan el promedio de 12 secciones por tratamiento \pm error estándar.

Figure 5. Cell size of the cross section of the mesocarp of parthenocarpic and pollinated fruits of 'Ataulfo' mango, 45 days DDF. 1X= an application at 0 DDF; 3X= three applications at 15+30+45 DDF; 4X= four applications at 15+30+45+60 DDF. Column bars represent the average of 12 sections per treatment \pm standard error.

Discussion

Growth regulators increased the size of parthenocarpic fruits in both length and diameter. A 20% increase was achieved with T1 and 23% with T2, with respect to fruit length without regulator (T3). According to several authors, the increase in size is due to the fact that the regulators increase the demand force by modifying the distribution pattern of photosynthesis (Pérez and Gómez, 2000; Agusti *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2007; Khalid *et al.*, 2012).

The results of this study do not coincide with the previous reports, since the sugar content was similar to the fruits without growth regulator, so in 'Ataulfo' mango the size achieved in parthenocarpic fruits was not a function of the accumulation of sugars; which coincides with the results found by Cano and Darnell (1977a) where the size of cranberry fruits both pollinated and treated with AG₃ did not depend on the capacity to accumulate sugars. This indicates that the response of the photosynthesis distribution depends on the type of fruit and the species.

'Keitt' por Bernardes *et al.* (2008) mencionando que en las primeras etapas de desarrollo, glucosa y fructosa pueden ser utilizadas tanto para sintetizar almidón como para respiración.

El contenido de sacarosa en ambos tipos de fruto, fue prácticamente insignificante en las primeras etapas de desarrollo (15 - 45 DDF; división y elongación celular) y se incrementó a partir de los 60 DDF logrando un incremento de casi 100% en madurez fisiológica. Diferentes estudios muestran que durante las primeras etapas de desarrollo, sacarosa es transportada de las hojas a frutos en desarrollo, es hidrolizada por enzimas como sacarosa sintasa al entrar a la célula vía simplasto e invertasa ácida o de pared celular al entrar vía apoplasto, para proporcionar el carbono demandado durante el desarrollo (Koch, 2004; Bernardes *et al.*, 2008). Al respecto, Wei *et al.* (2013) reportan una alta actividad de invertasa ácida en frutos en desarrollo (etapa I) de mango 'Irwin'.

Por otro lado, independientemente del tipo de fruto y la aplicación de reguladores, sacarosa fue el azúcar de mayor presencia en frutos con madurez fisiológica. Lo anterior, indica que fue el principal azúcar desde madurez fisiológica hasta maduración (postcosecha) y es el responsable de la dulzura del fruto. Los resultados encontrados coinciden con los obtenidos por Castrillo *et al.* (1992); Bernardes *et al.* (2008) y Wei *et al.* (2013), en mango 'Haden', 'Keitt' e 'Irwin', respectivamente. De acuerdo con estos autores, en la etapa de maduración la degradación de almidón en fruto está altamente correlacionada con la acumulación de sacarosa. Por otro lado, diversos autores coinciden que esta etapa la síntesis de sacarosa es debido a la actividad de la enzima sacarosa fosfato sintasa (Hubbard *et al.*, 1991; Castrillo *et al.*, 1992; Wei *et al.*, 2013).

Por otro lado, el número de células se incrementó en frutos partenocárpicos independientemente de la aplicación de reguladores en la etapa I y II del desarrollo del fruto, con una tendencia hacia un incremento acorde al desarrollo del mismo. En la etapa I de desarrollo de fruto (15 DDF), se logró un incremento de 30% en T1 (una aplicación de TDZ en floración y tres aplicaciones de AG₃ a 15+30+45 DDF), con relación al testigo. Lo que sugiere la acción del TDZ (citocinina) en división celular durante esa etapa. Al inicio de la etapa II (30 DDF) el incremento fue de 12% respecto al testigo con el mismo tratamiento, pero al final de esa etapa (45 DDF) la diferencia entre este y el testigo fue de aproximadamente 24%.

In pollinated and parthenocarpic fruits, glucose showed low content during the early stages of development and decreased in the stage of rapid fruit growth, while fructose remained slightly unstable during all growth, showing levels slightly higher than glucose. The results agree with those obtained in mango 'Irwin' by Wei *et al.* (2013) and 'Keitt' by Bernardes *et al.* (2008) mentioning that in the early stages of development, glucose and fructose can be used both to synthesize starch and to breathe.

Sucrose content in both types of fruit was practically insignificant in the early stages of development (15-45 DDF, division and cell elongation) and increased from 60 DDF achieving an increase of almost 100% in physiological maturity. Different studies show that during the early stages of development, sucrose is transported from leaves to developing fruits, it is hydrolyzed by enzymes such as sucrose synthase upon entry into the cell via simplasto and acidic or cell wall invertase upon entry via apoplast, to provide the carbon demanded during development (Koch, 2004; Bernardes *et al.*, 2008). In this regard, Wei *et al.* (2013) report high acid invertase activity in developing fruits (stage I) of 'Irwin' mango.

On the other hand, regardless of the type of fruit and the application of regulators, sucrose was the sugar of greater presence in fruits with physiological maturity. This indicates that it was the main sugar from physiological maturity to maturation (postharvest) and is responsible for the sweetness of the fruit. The results found coincide with those obtained by Castrillo *et al.* (1992); Bernardes *et al.* (2008) and Wei *et al.* (2013), in mango 'Haden', 'Keitt' and 'Irwin', respectively. According to these authors, in the stage of maturation the degradation of starch in fruit is highly correlated with the accumulation of sucrose. In addition, several authors agree that sucrose synthesis is due to the activity of sucrose phosphate synthase (Hubbard *et al.*, 1991; Castrillo *et al.*, 1992; Wei *et al.*, 2013).

On the other hand, the number of cells was increased in parthenocarpic fruits independently of the application of regulators in stage I and II of the development of the fruit, with a tendency towards an increase according to the development of the same. In stage I of fruit development (15 DDF), a 30% increase in T1 (one application of TDZ in flowering and three applications of AG₃ to 15 + 30 + 45 DDF) was achieved in relation to the control. This suggests the action of TDZ (cytokinin) on cell division during that stage. At the beginning of stage II (30 DDF) the increase was

Los resultados indican que la aplicación de citocininas (TDZ) fue clave al momento de floración para inducir mayor división celular y por lo tanto mayor número de células, lo que probablemente se asocia con el tamaño logrado en frutos partenocárpicos. Los resultados coinciden con lo reportado en diversos frutales, donde hay evidencias que los reguladores de crecimiento inducen amarre y desarrollo de frutos partenocárpicos, afectando división y alargamiento celular (Pérez y Gómez, 2000; Zhang *et al.*, 2006).

En general, el periodo de división celular del mesocarpo fue de 15 hasta 30 DDF (Figura 6), pero en el mesocarpo de frutos testigo se observó menor división a 30 DDF (Figura 6f). En la Figura 6a, se puede observar un mayor número de células a 15 DDF provocado por la acción de TDZ, respecto testigo Figura 6c en la misma etapa.

Con relación al tamaño de células, durante la etapa I, los frutos de T2 (cuatro aplicaciones de TDZ+AG₃ a 15+30+45+60 DDF), tuvieron numéricamente células más grandes pero significativamente iguales a testigo. En el mismo tratamiento, a partir del inicio de la etapa II (30 DDF) y hasta el final de la etapa (45 DDF) el tamaño se incrementó 30% con relación al testigo y 23% respecto a los frutos de T1 (una aplicación de TDZ en floración y tres aplicaciones de AG₃ a 15+30+45 DDF). El incremento alcanzado en el tamaño de células de frutos partenocárpicos puede explicar, al igual que el logrado en número de células, el aumento en longitud y diámetro de fruto y por ende en el tamaño del mismo, indicando que las aplicaciones repetidas de TDZ y AG₃ estimularon la elongación celular y por lo tanto el tamaño del fruto.

Los resultados coinciden con los obtenidos en frutales como vid (Pérez y Gómez, 2000) y en pera 'Kousui' (Zhang *et al.*, 2007), donde el incremento en tamaño de fruto lo asociaron con un incremento en el tamaño de células del mesocarpo por la acción de GAs. En arándano, las diferencias en tamaño de fruto fueron asociadas principalmente a diferencias en tamaño de células, pero el número de células tuvo una menor relación (Cano-Medrano y Darnell, 1997b).

Por otro lado, aun cuando se incrementó el tamaño de frutos partenocárpicos, éste no superó al de los polinizados. La diferencia fue en que, aunque los reguladores estimularon división y elongación celular en frutos partenocárpicos, el tamaño de las células en frutos polinizados fue mayor (Figura 7a).

12% with respect to the control with the same treatment, but at the end of that stage (45 DDF) the difference between this and the control was approximately 24%.

The results indicated that the application of cytokinins (TDZ) was key at the time of flowering to induce greater cell division and therefore a larger number of cells, which is probably associated with the size achieved in parthenocarpic fruits. The results agree with that reported in several fruit trees, where there is evidence that growth regulators induce mooring and development of parthenocarpic fruits, affecting cell division and elongation (Pérez and Gómez, 2000; Zhang *et al.*, 2006).

In general, the cell division period of the mesocarp was 15 to 30 DDF (Figure 6), but in the control fruit mesocarp smaller division was observed at 30 DDF (Figure 6F). In Figure 6A, a larger number of cells can be observed at 15 DDF caused by the action of TDZ, relative to control Figure 6C at the same stage.

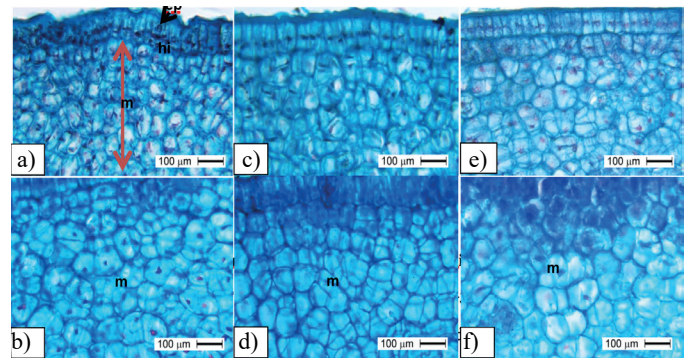


Figura 6. Número de células en mesocarpo de frutos partenocárpicos de mango 'Ataulfo'. Con una aplicación de TDZ a 0 DDF + tres aplicaciones de AG₃ a 15+30+45 DDF en la etapa I de rápido crecimiento de fruto (a) e inicio de etapa II (b); número de células en frutos tratados con cuatro aplicaciones de TDZ+AG₃ a 15+30+45+60 DDF en la etapa I de rápido crecimiento de fruto (c) e inicio de etapa II (d); número de células en frutos sin regulador de crecimiento en la etapa I de rápido crecimiento de fruto (e) e inicio de etapa II (f); ep= epicarpio, hi= hipocarpio, m= mesocarpo.

Figure 6. Number of cells in mesocarp of 'Ataulfo' mango fruit. with TDZ application at 0 DDF + three applications of AG₃ at 15 + 30 + 45 DDF at stage I of fast fruit growth (a) and start of step II (b); number of cells in fruits treated with four applications of TDZ + AG₃ at 15 + 30 + 45 + 60 DDF in stage I of fast fruit growth (c) and start of Stage II (d); umber of cells in fruits without growth regulator in stage I of fast growing fruit (e) and beginning of Stage II (f); ep= epicarp; hi= hypocarp; m= mesocarp.

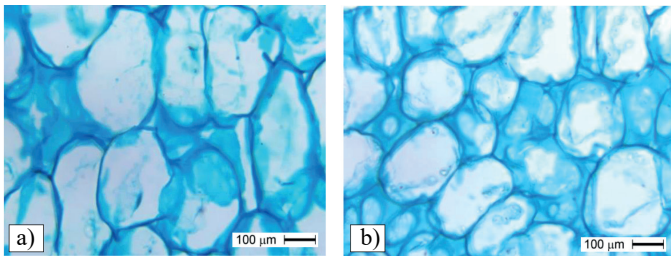


Figura 7. Tamaño de células en frutos polinizados (a) y partenocárpicos (b) a los 45 DDF, tratados con cuatro aplicaciones de TDZ+AG₃ a 15+30+45+60 DDF. Nótese el mayor tamaño de células en el mesocarpio de frutos polinizados.

Figure 7. Size of cells in pollinated (a) and parthenocarpic (b) fruits at 45 DDF, treated with four TDZ + AG₃ applications at 15 + 30 + 45 + 60 DDF. Note the larger cell size in the mesocarp of pollinated fruits.

Conclusiones

La aplicación de TDZ y AG₃, no incrementó la fuerza de la demanda en frutos partenocárpicos, de ‘Ataulfo’, por lo que el incremento logrado en tamaño de los mismos, no está asociada con la distribución de fotosintatos.

La sacarosa fue el principal azúcar en frutos de mango ‘Ataulfo’ en la etapa III del desarrollo.

El incremento logrado en el tamaño de frutos partenocárpicos estuvo asociado a una mayor división y elongación celular.

En frutos partenocárpicos, TDZ (citocinina) asumió un papel importante en división celular mientras que AG₃ lo tuvo en expansión celular.

Los frutos polinizados tienen células más grandes que los partenocárpicos.

Literatura citada

- Agusti, M.; Martínez, F. A. and Mesejo, C. 2002. Citrus fruit quality. Physiological basis and techniques of improvement. *Agrociencia*. 6(2):1-16.
- Avigad, G. 1982. Sucrose and other disaccharides. *In: plant carbohydrates*. 1. Intracellular carbohydrates. Loewus, F. A. and Tanner, W. (Eds.). Springer-Verlag, Berli. ISBN 3-540-216-11007-0. 13A:234 p.

Regarding cell size, during stage I, T2 fruits (four applications of TDZ + AG₃ at 15 + 30 + 45 + 60 DDF) had numerically larger but significantly equal cells to the control. In the same treatment, from the beginning of stage II (30 DDF) until the end of stage (45 DDF) the size increased 30% in relation to the control and 23% in relation to the fruits of T1 (an application of TDZ in flowering and three applications of AG₃ to 15 + 30 + 45 DDF). The increase in cell size of parthenocarpic fruits can explain, as well as that achieved in cell numbers, the increase in fruit length and diameter and therefore in the size of the fruit, indicating that the repeated applications of TDZ and AG₃ stimulated the cellular elongation and therefore the size of the fruit.

The results agree with those obtained in fruit trees such as vine (Pérez and Gómez, 2000) and in pear ‘Kousui’ (Zhang *et al.*, 2007), where the increase in fruit size was associated with an increase in the size of mesocarp by the action of GAs. In cranberry, differences in fruit size were mainly associated with differences in cell size, but the number of cells had a lower ratio (Cano-Medrano and Darnell, 1997b).

On the other hand, even when the parthenocarpic fruit size increased, it did not exceed that of the pollinated ones. The difference was that although the regulators stimulated cell division and elongation in parthenocarpic fruits, the size of the cells in pollinated fruits was higher (Figure 7a).


Conclusions

The application of TDZ and AG₃ did not increase the strength of the demand in parthenocarpic fruits of ‘Ataulfo’, so the increase in size of the fruits is not associated with the distribution of photosynthates.

Sucrose was the main sugar in mango fruits ‘Ataulfo’ in stage III development.

The increase in parthenocarpic fruit size was associated with greater cell division and elongation.

In parthenocarpic fruits, TDZ (cytokinin) assumed an important role in cell division while AG₃ had it in cellular expansion.

- Bernardes, S. A. P. F.; Lajolo, F. M. e Cordenunsi, B. R. 2003. Evolução dos teores de amido e açúcares solúveis durante o desenvolvimento e amadurecimento de diferentes cultivares de manga. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*. 23(Supl):116-120.
- Bernardes, S. A. P. F.; Oliveira-Nascimento, J. R.; Lajolo, F. M. and Cordenunsi, B. R. 2008. Starch mobilization and sucrose accumulation in the pulp of Keitt mangoes during postharvest ripening. *J. Food Biochem.* 32:384-395.
- Bertin, N.; Borel, C.; Brunel, B.; Cheniclet, C. and Causse, M. 2003. Do genetic make-up and growth manipulation affect tomato fruit size by cell number, or cell size and DNA end reduplication? *Ann. Bot. Lond.* 92(3):415-424.
- Bertin, N.; Causse, M.; Brunel, B.; Tricon, D. and Genard, M. 2009. Identification of growth processes involved in QTLs for tomato fruit size and composition. *J. Expt. Bot.* 60(1):237-248.
- Bohner, J. and Bangerth, F. 1988. Effects of fruit-set sequence and defoliation on cell number, cell-size and hormone levels of tomato fruits (*Lycopersicon esculentum* Mill.) within a truss. *Plant Growth Regulator*. 7(3):141-155.
- Cano, M. R. and Darnell, R. L. 1997a. Sucrose metabolism and fruit growth in parthenocarpic vs seeded blueberry (*Vaccinium ashei*) fruits. *Physiol. Plantarum*. 99(3):439-446.
- Cano, M. R. and Darnell, R. L. 1997b. Cell number and cell size in parthenocarpic vs pollinated blueberry (*Vaccinium ashei*) fruit. *Annals of Botany*. 80(4):419-425.
- Castrillo, M.; Kruger, N. J. and Whatley, F. R. 1992. Sucrose metabolism in mango fruit during ripening. *Ireland. Plant Sci.* 841:45-51.
- Cheng, G. W. and Breen, P. J. 1992. Cell count and size in relation to fruit size among strawberry cultivars. *USA. J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 117(6):946-950.
- Goldschmidt, E. E. 1999. Carbohydrate supply as a critical factor for citrus fruit development and productivity. *USA. HortScience*. 34(6):1020-1024.
- Hubbard, N. L.; Pharr, D. M. and Huber, S. C. 1991. Sucrose phosphate synthase and other sucrose metabolizing enzymes in fruits of various species. *Physiol. Plantarum*. 82(2):191-196.
- Johnson, L. K.; Malladi, A. and NeSmith, S. 2011. Differences in cell number facilitate fruit size variation in rabbiteye blueberry genotypes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 136(1):10-15.
- Khalid, S.; Mañik, A. U.; Khan, A. S. and Jamil, A. 2012. Influence of exogenous applications of plant growth regulators on fruit quality of young 'Kinnow' mandarin (*Citrus nobilis* × *C. deliciosa*) trees. *Int. J. Agric. Biol.* 14(2):229-234.
- Pollinated fruits have larger cells than parthenocarpic ones.
- End of the English version*
-
- 
- Koch, K. 2004. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development. *Plant Biol.* 7(3):235-246.
- Ogata, T; Tamura, H.; Hamada, K. and Hasegawa, K. 2010. Effect of gibberelin on setting and growth of non-pollinated parthenocarpic fruit in mango. *Acta Hort.* 884(78):597-604.
- Olmstead, J. W.; Lezzoni, A. F. and Whiting, M. D. 2007. Genotypic differences in sweet cherry fruit size are primarily a function of cell number. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 132(5):697-703.
- Pérez, B. M. H.; Osuna-Encio, T.; Gutiérrez-Espinosa, M. A.; Santiago-Cruz, M. de J. y Cano-Medrano, R. 2015. Thidiazuron y ácido gibrerélico en amarre y tamaño de fruto de mango 'Ataulfo' polinizados y partenocárpico. *Interciencia*. 40(10):677-683.
- Pérez, F. and Gómez, M. 2000. Possible role of soluble invertase in the gibberellic acid berry-sizing effect in Sultana grape. *Plant Growth Regulation*. 30(2):111-116.
- Rapoport, H. F.; Manrique, T. and Gucci, R. 2004. Cell division and expansion in the olive fruit. *Acta Hort.* 636(56):461-465.
- SAS. 2008. SAS versión 9,2. SAS Institute Inc. Cary, NC, EEUU.
- Scorza, R.; May, L. G.; Purnell, B. and Upchurch, B. 1991. Differences in number and area of mesocarp cells between small- and large fruited peach cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116(5):861-864.
- Tanksley, S. D. 2004. The genetic, developmental, and molecular bases of fruit size and shape variation in tomato. *Plant Cell*. 16(1):S181-S189.
- Wei, C. B.; Wu, H. X.; Ma, W. H.; Wang, S. B. and Sun, G. M. 2013. Sucrose Metabolism and Changes of Relative Enzymes in *Mangifera indica* L. 'Irwin'. *Acta Hort.* 992(70):569-574.
- Zhang, C.; Tanabe, K.; Tamura, F.; Itai, A. and Yoshida, M. 2007. Roles of gibberellins in increasing sink demand in Japanese pear fruit during rapid fruit growth. *Plant Growth Regulator* 52(2):161-172.
- Zhang, C.; Tanabe, K.; Wang, S.; Tamura, F.; Yoshida, A. and Matsumoto, K. 2006. The impact of cell division and cell enlargement on the evolution of fruit size in *Pyrus pyrifolia*. *Ann. Bot.* 98(3):537-543.