

Cuajado y Desarrollo de los Frutos Cítricos

Manuel Agustí

Amparo Martínez-Fuentes

Carlos Mesejo

Mariano Juan

Vicente Almela

Cuajado y Desarrollo de los Frutos Cítricos

Cuajado y Desarrollo de los Frutos Cítricos

Manuel Agustí

Amparo Martínez-Fuentes

Carlos Mesejo

Mariano Juan

Vicente Almela

Instituto Agroforestal Mediterráneo
Universidad Politécnica
Valencia

Edita: GENERALITAT VALENCIANA
Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación

Fotomecánica,
Diseño e Impresión: Textos i Imatges, S.A.
Tel.: 96 313 40 95 Valencia

I.S.B.N.: 84-482-3591-6
Depósito Legal: V-2802-2003

ÍNDICE

9	1 • EL DESARROLLO DE UN FRUTO CÍTRICO
9	1•1 EL FRUTO
9	1•2 FASES DEL CRECIMIENTO
13	2 • LA FLORACIÓN Y LA FRUCTIFICACIÓN DE LOS CÍTRICOS
13	2•1 LA FRUCTIFICACIÓN
14	2•1•1 LA FLOR
15	2•1•2•A EL GINECEO
18	2•1•2•B EL ANDROCEO
19	2•1•2•C EL TUBO POLÍNICO Y SU DESARROLLO
20	2•1•2 LA FECUNDACIÓN
21	2•1•3 LA PARTENOCARPIA
23	2•2 FACTORES QUE DETERMINAN EL CUAJADO
23	2•2•1 FACTORES ENDÓGENOS
23	2•2•1•1 COMPETENCIA. DISPONIBILIDAD DE CARBOHIDRATOS
33	2•2•1•2 CAPACIDAD SUMIDERO. CONTROL HORMONAL
34	2•3 ESTÍMULO DEL CUAJADO
38	2•4 CONSIDERACIONES FINALES
40	3 • CRECIMIENTO DE LOS FRUTOS CÍTRICOS
40	3•1 FACTORES DETERMINANTES DEL CRECIMIENTO DEL FRUTO
40	3•1•1 FACTORES ENDÓGENOS
40	3•1•1•1 FACTORES GENÉTICOS
40	3•1•1•2 POSICIÓN DEL FRUTO
41	3•1•1•3 COMPETENCIA ENTRE ÓRGANOS EN DESARROLLO
41	3•1•2 FACTORES EXÓGENOS
41	3•1•2•1 FACTORES AMBIENTALES
41	3•1•2•1•1 TEMPERATURA
42	3•1•2•1•2 PLUVIOMETRÍA
42	3•1•2•1•3 SUELO
43	3•1•2•2 PRÁCTICAS CULTURALES
43	3•1•2•2•1 RIEGO

43	3•1•2•2•2 FERTILIZACIÓN
44	3•1•2•2•3 PATRÓN
44	3•2 ESTÍMULO DEL DESARROLLO DEL FRUTO
44	3•2•1 REDUCCIÓN DE LA COMPETENCIA
44	3•2•1•1 ACLAREO DE FRUTOS
47	3•2•1•2 MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS SUSTANCIAS ACLARANTES
49	3•2•1•3 REDUCCIÓN DE LA FLORACIÓN
50	3•2•2 MODIFICACIÓN DEL REPARTO NUTRICIONAL
52	3•2•3 AUMENTO DE LA CAPACIDAD SUMIDERO DE LOS FRUTOS
52	3•2•3•1 TRATAMIENTOS
58	3•2•3•2 MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS AUXINAS DE SÍNTESIS SOBRE EL DESARROLLO DEL FRUTO
61	4 • LA MADURACIÓN DE LOS FRUTOS
61	4•1 LA MADURACIÓN DE LOS FRUTOS CÍTRICOS
61	4•1•1 EVOLUCIÓN. CONTROL ENDÓGENO
63	4•1•2 CONTROL EXÓGENO DE LA MADURACIÓN
66	4•2 SENESCENCIA. ALTERACIONES ASOCIADAS
70	5 • REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 • EL DESARROLLO DE UN FRUTO CÍTRICO

1.1 EL FRUTO

El fruto de los cítricos es una baya típica llamada hesperidio. En él se pueden distinguir las siguientes partes (Foto 1) (González-Sicilia, 1968; Schneider, 1968):

- Exocarpo o flavedo, que es la región más externa y constituye la parte visible de la corteza, formada por células epidérmicas de color verde cuando el fruto es inmaduro y naranja o amarillo, según la especie, en la madurez.
- Mesocarpo o albedo, que es la región situada debajo del exocarpo, formado por un tejido blanco esponjoso de células parenquimáticas.
- Endocarpo, que es la región más interna y está constituido por los lóculos o gajos. Los lóculos contienen las vesículas de zumo, formadas por un cuerpo de células completamente vacuolizadas y un pedúnculo que las mantiene unidas a la epidermis dorsal de los carpelos y limitadas lateralmente por los septos.

El exocarpo y mesocarpo constituyen la corteza del fruto propiamente dicha.

Dentro de los lóculos del endocarpo se encuentran las semillas.

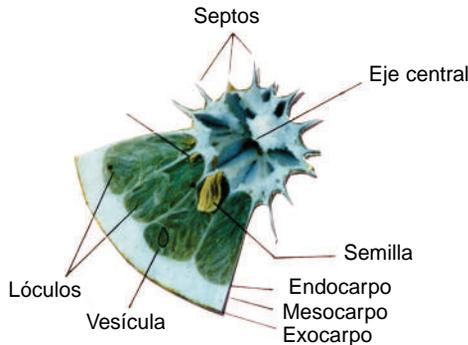


Foto 1. Sección transversal de un fruto de pomelo 'Marsh'.

1.2 FASES DEL CRECIMIENTO

El desarrollo de este fruto sigue una curva sigmoideal, desde la antesis hasta su maduración, caracterizada por tres períodos bien diferenciados (Bain, 1958; Figura 1):

1) Período de crecimiento exponencial o fase I.

Este período dura desde la antesis hasta el final de la caída fisiológica de los frutos, y se caracteriza por un rápido crecimiento del fruto provocado por la división celular, con el consiguiente aumento del número de células de todos sus tejidos en desarrollo, excepto del eje central.

El aumento en el tamaño del fruto es debido, principalmente, al crecimiento de la corteza. Por un lado, el volumen del exocarpo aumenta por la división de sus células. Por otro, hay un aumento de volumen en el mesocarpo por engrosamiento de sus paredes celulares y un aumento del tejido vascular. Este tejido vascular no tiene conexión con la pulpa en desarrollo.

Además de este crecimiento de la corteza, al principio de este período hay un aumento en el volumen del endocarpo, debido principalmente a la división celular en los septos y en las paredes tangenciales de los lóculos. Al final de este período, los lóculos aumentan de tamaño por engrosamiento de las células centrales de los septos y por la elongación radial de las células tangenciales.

Asimismo, de las células situadas en la cara más interna de las paredes tangenciales de los lóculos se forman los primordios de las vesículas de zumo. Estas crecen hacia el interior de los lóculos por la acción de un meristemo apical, y al final de este período los ocupan por completo.

2) Periodo de crecimiento lineal o fase II.

Este período se prolonga durante varios meses, desde el final de la caída fisiológica del fruto hasta poco antes de su cambio de color. Su duración es, por tanto, variable según la variedad: corta en variedades precoces (2 meses) y larga en las más tardías (5-6 meses).

Se caracteriza por una expansión marcada de los tejidos, acompañada por un agrandamiento celular y la formación de grandes espacios intercelulares en el mesocarpo que le confieren una consistencia esponjosa, con la ausencia de división celular en casi todos los tejidos excepto los del exocarpo (Foto 2).

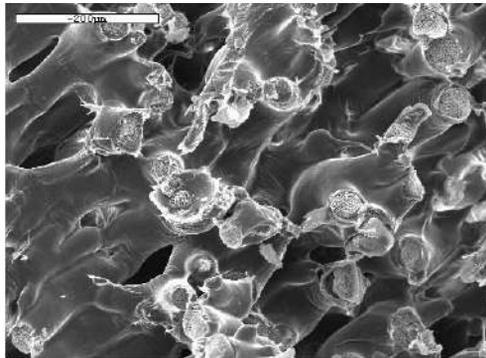


Foto 2. Microfotografía electrónica de barrido del albedo de un fruto de navelate dulce 'Navelate'. El aspecto tubular de las células y los espacios intercelulares son consecuencia de la presión que la pulpa, durante su crecimiento, ejerce sobre él.

En esta fase el aumento de tamaño se debe principalmente al desarrollo de los lóculos, en cuyo interior las vesículas de zumo llegan a alcanzar su máxima longitud y el contenido en zumo de sus células aumenta. El pedúnculo vesicular es el conducto a través del cual incorporan el zumo.

En el naranjo dulce 'Valencia' (Bain, 1958), la corteza alcanza su máximo espesor durante las cuatro primeras semanas de este período, llegando a ser más delgada al final de las siguientes catorce semanas, a causa del crecimiento de la pulpa, y cambiando poco en espesor durante el resto del período.

3) Periodo de maduración o fase III.

Este periodo se caracteriza por una reducida tasa de crecimiento mientras el fruto se mantiene en el árbol y comprende todos los cambios asociados a la maduración.

El aumento del tamaño del fruto es debido al aumento de los segmentos de pulpa, al aumento en anchura del eje central y al crecimiento de la corteza, que en algunas variedades llega a ser muy importante ('Satsuma', 'Oroval',...) y en otras apenas es perceptible ('Clementina', 'Navelate',...).

La pigmentación de la corteza es consecuencia de la degradación enzimática de las clorofilas del flavedo y de la síntesis de carotenoides. Ambos procesos coinciden normalmente con la maduración interna, si bien están sujetos a controles distintos.

El contenido en sólidos solubles, sobre todo azúcares y compuestos nitrogenados, aumenta, mientras que los ácidos libres disminuyen progresivamente como consecuencia, fundamentalmente, de un proceso de dilución.

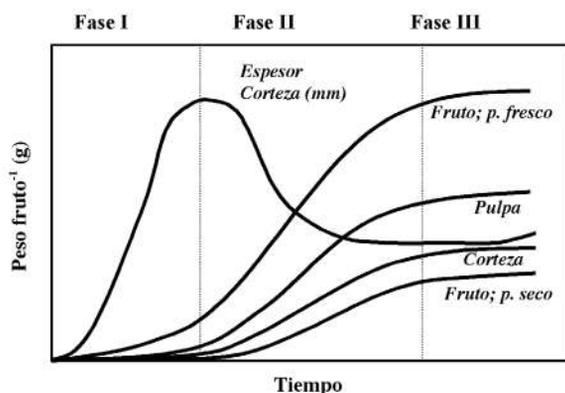


Figura 1. Las fases del desarrollo de un fruto cítrico. Adaptado de Bain, 1958.

Según Agustí y Almela (1991), la acumulación de metabolitos por el fruto es la causa de su desarrollo. Este puede verse limitado por la incapacidad del fruto para acumularlos o por su falta de disponibilidad en la planta. Como ambos factores se hallan estrechamente interrelacionados, la modificación de uno de ellos incide en el otro, por lo que una misma respuesta, el aumento de tamaño, puede lograrse actuando sobre la acumulación de metabolitos o sobre su suministro, aunque con distinta eficacia.

Factores ambientales y de cultivo, sobre todo el riego y la fertilización, inciden marcadamente en el desarrollo del fruto y su tamaño final, lo que exige la optimización de las técnicas de cultivo. Sin embargo, aún en condiciones óptimas es posible conseguir un aumento del tamaño del fruto mediante la manipulación de la planta y la modificación de las relaciones nutricionales endógenas y su distribución (Agustí y Almela, 1984). Como se verá más adelante, esto puede lograrse:

- a) Aumentando la disponibilidad de metabolitos por el fruto, a través de una reducción del número de frutos por planta y, por tanto, de la competencia entre órganos en desarrollo. Constituye la operación denominada aclareo, y/o
- b) Incrementando la capacidad del fruto para crecer, modificando en un sentido favorable el equilibrio hormonal del mismo. Son las técnicas de estímulo del desarrollo del fruto conocidas como engorde.

2 • LA FLORACIÓN Y LA FRUCTIFICACIÓN DE LOS CÍTRICOS

En los cítricos, como en otros frutales, el cuajado y el desarrollo de los frutos es consecuencia de factores endógenos y exógenos. Entre los primeros, son las características genéticas de la especie y de la variedad, junto con los factores fisiológicos, los que determinan la producción y su calidad; entre los segundos, las condiciones del medio y el cultivo. Los factores genéticos y las condiciones del medio, suelo y clima, no pueden ser alterados en condiciones de cultivo. Los factores fisiológicos, por el contrario, pueden ser modificados; pero para ello es necesario conocerlos. Las técnicas de cultivo tienen este objetivo como fin: aplicar los conocimientos sobre el desarrollo de las plantas para lograr una mejor producción y calidad de sus frutos.

Bajo un punto de vista fisiológico, los factores nutricionales y hormonales son determinantes en la producción y calidad de los frutos. Los primeros hacen referencia, prioritariamente, a la disponibilidad por carbohidratos; los segundos determinan la capacidad sumidero del fruto y, por tanto, su poder para atraerlos. Cuando uno de ellos, o los dos, son deficitarios, la producción y el desarrollo del fruto se reducen, dependiendo del estado de desarrollo del fruto en que se produzca el déficit. Durante la fase I de desarrollo del fruto, la planta ajusta su capacidad de nutrir a los frutos en desarrollo modificando el número de éstos, de modo que todos aquellos que reciben una nutrición deficiente se desprenden de la planta; durante la fase II, los frutos no caen pero ven reducida su tasa de crecimiento y, consecuentemente, su tamaño final. Así se explica por qué es posible encontrar cosecha muy bajas de frutos pequeños y, viceversa, cosechas muy elevadas de frutos de buen tamaño (Figura 2).

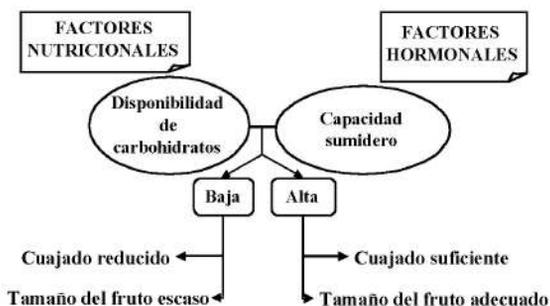


Figura 2. Influencia de los factores endógenos sobre el desarrollo de los frutos cítricos.

2.1 LA FRUCTIFICACIÓN

La función biológica de la flor consiste en albergar los procesos de reproducción sexual que las plantas desarrollan para perpetuar la especie. Durante la polinización, el grano de polen es transportado hasta el estigma, donde germina, emite el tubo polínico que desciende por el estilo, penetra en el ovario y llega hasta el óvulo al que fecunda. Tras la fecundación, la flor se convierte en fruto, que se encarga de proteger y facilitar la diseminación de la (s) semilla (s) formada (s) hasta la germinación de una nueva planta. Numerosos factores internos y externos influyen en este proceso, algunos de los cuales son, todavía, poco conocidos.

Existen varios agentes capaces de transportar el polen de unas flores a otras (Agustí, 2000a), pero el tipo de polinización depende, en gran medida, de las características físicas del polen. En el caso de los cítricos el polen es pesado, viscoso y adherente, característico de la polinización a través de insectos o entomófila. Las abejas (*Apis mellifera*) son el principal agente polinizador de estas especies, representando más del 90 % de los vectores polinizadores (Pons *et al*, 1996).

Cuando un pistilo es polinizado por el polen de la misma planta o de otra planta genéticamente idéntica recibe el nombre de autopolinización; si, además, se produce la fecundación, ésta se denomina autofecundación. Cuando el polen procede de otra planta genéticamente distinta la polinización es cruzada y en el caso de que tenga lugar la fecundación se denomina, también, cruzada (Frost y Soost, 1968).

La citricultura española está basada en variedades sin semillas y de alta calidad para el consumo en fresco. Pero el periodo de comercialización, particularmente de las mandarinas clementinas, es restringido en el tiempo y, por tanto, concentra su oferta y provoca una caída de los precios. Con el fin de ampliar aquél, se introdujeron híbridos de frutos similares a las mandarinas y de maduración más tardía, como las mandarinas 'Fortune' y 'Nova' y los tangors 'Ortanique' y 'Ellendale'. Desde entonces empezó a detectarse la aparición de semillas tanto en las variedades citadas como en el grupo de las Clementinas, circunstancia que no se había dado hasta el momento. Cuando las plantaciones de híbridos y Clementinos se cultivan aisladas, la aparición de semillas es inexistente, dado el carácter autoincompatible de los dos grupos varietales (Soler, 1999); sin embargo, cuando las plantaciones están lo suficientemente próximas como para que las abejas sean capaces de transportar el polen de unas a otras, se produce la polinización y fecundación cruzada y, con ello, la formación de semillas. Aunque así se mejoran el cuajado y el tamaño final del fruto (Agustí, 1999), la gran cantidad de semillas presentes en éstos los hace comercialmente inviables.

Pero el desarrollo de un ovario sin semillas también es posible. Cuando ello ocurre recibe el nombre de partenocarpia. Este fenómeno, que se presenta de forma natural, es frecuente en muchas variedades de cítricos.

2.1.1 La flor



Foto 3. Flor de naranjo dulce en antesis.

Desde el punto de vista anatómico, la flor de los cítricos está perfectamente diseñada para facilitar la reproducción sexual. Así, es hermafrodita, es decir, está formada por una parte masculina o androceo y una femenina o gineceo, y los sépalos y los pétalos protegen al aparato sexual hasta el momento preciso en el que se debe producir la fecundación (Foto 3). Sin embargo, en ocasiones, aparecen

barreras fisiológicas que interrumpen o impiden el desarrollo normal del proceso con el fin de promover el intercambio de información genética entre individuos y evitar problemas de consanguinidad.

2•1•1•1 El gineceo

El gineceo se compone de estigma, estilo y ovario (Foto 4).

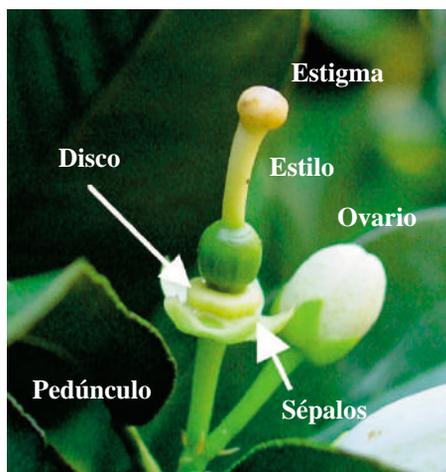


Foto 4. Flor de naranjo dulce 'Salustiana' en caída de pétalos.

El estigma de los cítricos es de forma esférica y su color evoluciona de verde a marrón, pasando por amarillo, en función de su viscosidad y estado de madurez (Foto 5A y 5B). Su superficie está compuesta por numerosas células papilares epidérmicas (Foto 5C). Desde el punto de vista de la fecundación, la función del estigma es facilitar la adhesión del grano de polen y su germinación para que inicie el desarrollo de su tubo polínico. En el proceso de maduración del estigma se producen cambios morfológicos y fisiológicos por los que degeneran las papilas (Foto 5D) y se secretan sustancias relacionadas con la hidratación y el reconocimiento del grano de polen (Herrero y Arbeloa, 1989; Herrero y Dickinson, 1979), más que con su nutrición, ya que en el estigma el grano de polen es autótrofo (Herrero y Dickinson, 1981). En los cítricos, la receptividad del estigma dura desde 1-3 días antes de la antesis hasta 6-8 días después. Si el grano de polen no llega al estigma durante ese período, la fecundación no se produce.

El estilo es cilíndrico. En su interior se encuentran los canales estilares que se encargan de conducir el tubo polínico desde el estigma hasta el ovario (Foto 6A). A lo largo de su recorrido se secretan sustancias relacionadas con la nutrición del tubo polínico (Herrero y Dickinson, 1981) y con los mecanismos de incompatibilidad que interrumpen su desarrollo (Heslop-Harrison, 1983; Dickinson 1995), como ocurre en el caso de las clementinas (Eti y Stosser, 1992).

El ovario está formado por 8-10 carpelos unidos alrededor del eje floral formando los lóculos, donde se encuentran los óvulos (Foto 6B). Éstos se organizan en 2 filas paralelas a lo largo del eje central, ocupando todo el lóculo (Foto 6C) y se unen a la placenta mediante el funículo. En la base de funículo se sitúan unos pelos epidérmicos que crecen en el lóculo hacia la entrada de los óvulos.

La apertura a los lóculos de los canales estilares se encuentran entre las dos filas de óvulos (Frost y Soost, 1968). Los tejidos que componen el óvulo maduro son los tegumentos, externo e interno, la nucela y el saco embrionario (Fahn, 1982, Foto 6D). La zona por donde los tegumentos se unen al funículo se denomina chalaza (Foto 6D). En el extremo opuesto los tegumentos dejan una apertura denominada micropilo (Foto 6D), por donde penetra el gametofito masculino.

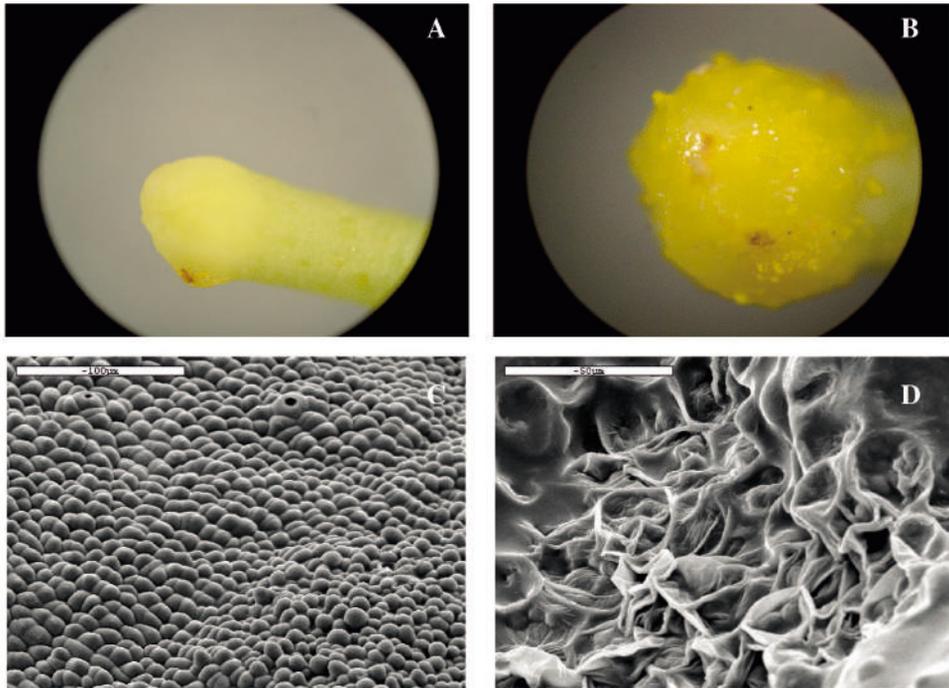


Foto 5. Estigma (A y B) y papilas estigmáticas (C y D) de una flor en preantesis (A y C) y antesis (B y D) de *Citrus limon*. A y B: 80x; C: 500x; D: 1000x.

En el saco embrionario inmaduro aparecen 8 células haploides (n), 2 de las cuales se fusionan formando una célula diploide ($2n$). Cuando el saco embrionario madura alberga, por tanto, 7 células: 3 antípodas (n), situadas en la zona de la chalaza, 2 sinérgidas (n) y la ovocélula (n) en la zona del micropilo, y el núcleo secundario del saco embrionario ($2n$) en el centro de éste. La nucela rodea al saco embrionario y se encarga de nutrirlo.

El ovario y el óvulo proporcionan señales que orientan y dirigen el tubo polínico en su recorrido por el pistilo (Herrero, 2000). Hasta el momento, se conocen 3 tipos de evidencias de este control (Herrero, 2001). El primero consiste en el efecto que tienen los cambios fisiológicos de los tejidos femeninos sobre el crecimiento del tubo polínico. En el género *Prunus* se ha demostrado que el obturador, una protuberancia intralocular, regula la entrada del tubo polínico en el óvulo. El tubo polínico se detiene al principio del obturador y solamente cuando éste entra en una fase secretora es capaz de llegar al óvulo, avanzando por la superficie del obturador (Arbelo y Herrero, 1987). En el maíz (*Zea mays*) esta función la realizan unos pelos epidérmicos que, una vez ha pasado el primer

tubo polínico, pierden la turgencia impidiendo que ningún otro tubo penetre hasta el óvulo (Heslop-Harrison *et al.*, 1985). En el caso de los cítricos no se ha encontrado, hasta ahora, ninguna estructura que realice esta función, si bien los pelos intraloculares situados en la base del funículo podrían estar relacionados con ella.

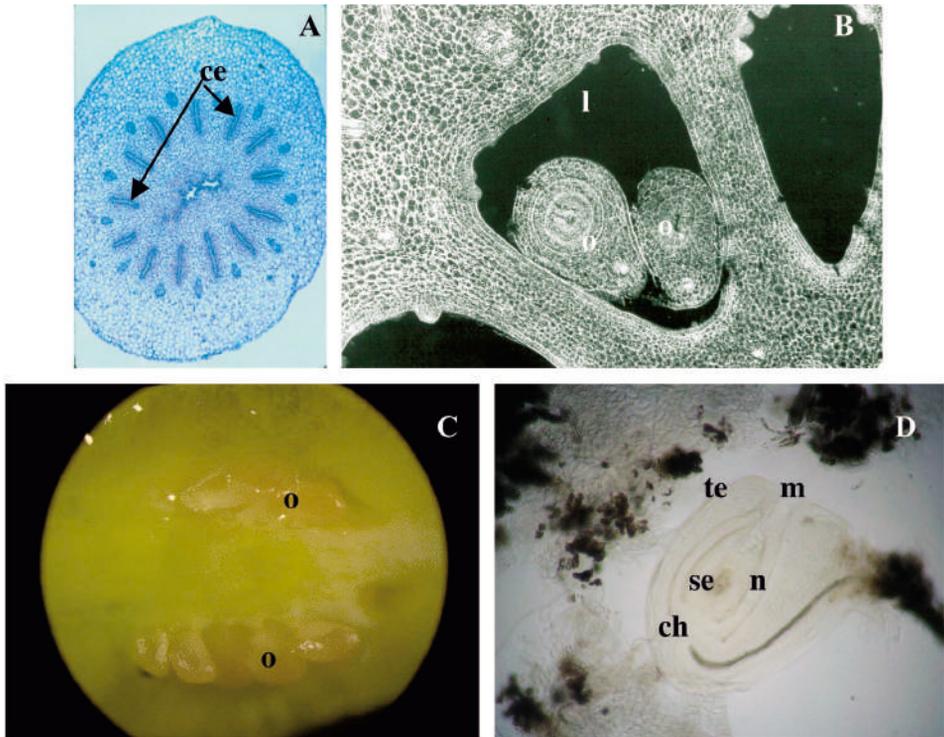


Foto 6. Sección transversal de un estilo de flor de *Citrus limon* (A). Sección transversal de un ovario de *Citrus sinensis* (B). Sección longitudinal de un ovario de *Citrus limon* (C). Óvulo de *Citrus limon* (D).
ce: canales estilares; l: lóculo; o: óvulo; m: micropilo; ch: chalaza; te: tegumentos; n: nucela; se: saco embrionario.

La entrada al óvulo también está controlada por una respuesta quimiotrópica. En este caso son las primeras células del micropilo las que secretan sustancias que permiten la entrada del tubo polínico (Mascarenhas, 1978). Por otra parte, en experimentos de fecundación *in vitro* en los que se dañaron las sinérgidas del saco embrionario, la fecundación no se produjo (Higashiyama *et al.*, 1998).

El segundo tipo de evidencias se relaciona con experimentos realizados con plantas mutantes de *Arabidopsis thaliana* incapaces de desarrollar el saco embrionario; en éstas los óvulos no atraen al tubo polínico (Wilhelmi y Preuss, 1996).

Finalmente, algunas moléculas presentes en el pistilo se han relacionado con el desarrollo del tubo polínico. Así, el Ca^{+2} ejerce un control fisiológico del crecimiento de éste (Derksen *et al.*, 1999) y se han encontrado concentraciones cuatro veces mayores de este ión en óvulos y placenta que en el resto del estilo (Mascarenhas y Machhliis 1962). Además, en ovarios que no han sido polinizados,

el Ca^{2+} no es consumido, mientras que en los polinizados sí lo es (Tian y Russel, 2000). También se han encontrado otras moléculas en el estigma y en el estilo, posiblemente conservadas en el ovario, relacionadas con el control del desarrollo del tubo polínico. Entre estas están las kinasas, un grupo de enzimas relacionadas con los sistemas de incompatibilidad de la flor (Nasrallah *et al.*, 1994). Finalmente, se han aislado moléculas relacionadas con la adhesión del tubo polínico al estilo (Lord, 2000) y otras relacionadas con la nutrición, como las glicoproteínas (Wu *et al.*, 1995).

2•1•1•2 El androceo

Los estambres son los órganos masculinos. La flor de los cítricos contiene entre 20 y 40 estambres que rodean a la parte femenina. Cada uno está formado por un filamento que sujeta a una antera (Foto 7). Los filamentos son de color blanco y están soldados, entre sí, por la base. Las anteras son de color amarillo o crema pálido pero su color se debe a los granos de polen y no a sus propios tejidos.

Cada antera esta formada por 2 tecas y cada teca por 2 lóculos en los que están los sacos polínicos, que generan y desarrollan los granos de polen. Alrededor de los sacos polínicos se sitúa un tejido de reserva llamado tapete, que nutre a las células madre del polen. El endotecio envuelve al tapete e inicia la dehiscencia de la antera deshidratando todas sus células.

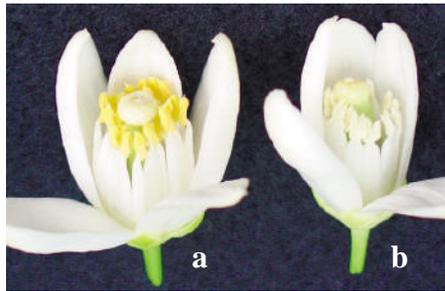


Foto 7. Flores de naranjo dulce 'Salustiana', androfértil (a), y 'Navelate', androestéril (b). El color de sus anteras indica la fertilidad (amarillo) o esterilidad (blanco) del polen.

Los granos de polen se forman por un proceso de microesporogénesis a partir de células de las capas subepidérmicas de la antera joven. El grano de polen maduro está constituido por 2 capas. La capa externa, o exina, es delgada pero muy resistente, debido a una sustancia que la recubre y se deposita desde el tapete llamada esporopolenina (Fahn, 1982). Su función es proteger los núcleos vegetativo y generativo hasta el momento de la germinación. Su parte externa está formada por una estructura llamada tectum, que da un aspecto reticulado a la superficie externa del grano de polen (Insa y Vidal, 1994). La capa interna, o intina, se forma a partir de capas delgadas de celulosa por la parte interna de la exina. Cuando se produce la germinación es la intina la que se alarga formando el tubo polínico.

Las aperturas (Foto 8A y 8B) del grano son zonas de exina más delgada (Saenz de Rivas, 1978) y tienen 2 funciones: desde su poro central emerge el tubo polínico (Foto 8B) y además regulan los cambios de forma provocados por diferencias higroscópicas.

Para clasificar morfológicamente los granos de polen se utiliza la relación P/E definida por los ejes imaginarios polar (P) y ecuatorial (E) (Foto 8A) y la terminología propuesta por Erdtman (1971). La mayoría del género *Citrus* se clasifica por la forma de sus granos en el grupo de subprolatos, al que corresponde un coeficiente P/E entre 1,14 y 1,33 (Insa y Vidal, 1994). Por ser de forma alargada, las aperturas de los granos de polen del género *Citrus* se llaman colpos, y dado que poseen generalmente cuatro aperturas, son tetracolporados. La zona entre 2 colpos recibe el nombre de mesocolpo (Foto 8A).

Mientras el polen permanece en la antera está deshidratado y se mantiene metabólicamente inactivo (Derksen *et al.*, 1999), pero cuando llega al estigma de la flor se produce su activación, se hidrata y libera enzimas por las aperturas (Heslop-Harrison, 1975). En su interior, además, se producen cambios morfológicos; así, el retículo endoplasmático rugoso pasa de estar agregado en placas a estar suelto en el citoplasma y las vesículas del complejo de Golgi empiezan a acumularse en el poro de germinación, donde se rompe la exina y la intina empieza a alargarse iniciando el desarrollo del tubo polínico (Derksen *et al.*, 1999).

2•1•1•3 El tubo polínico y su desarrollo.

El tubo polínico se divide en 4 partes: zona apical, zona subapical, zona nuclear y zona de vacuolización (Cresti *et al.*, 1977). La zona apical es la zona de crecimiento, define el diámetro del tubo y está rodeada de pared de naturaleza pectídica; es la zona donde se fusionan las vesículas del complejo de Golgi con la membrana plasmática para alargar el tubo y posee citoesqueleto, formado por microtúbulos, filamentos de actina y tubulina libre, que orientan las vesículas hacia el extremo.

La zona subapical se caracteriza por tener doble capa, una interna de naturaleza calósica y gruesa y una externa pecto-celulósica y fina. La calosa tiene propiedades fluorescentes cuando, teñida con azul de anilina, es iluminada con luz ultravioleta. Esta propiedad se utiliza en microscopia óptica para observar el desarrollo del tubo polínico (Foto 8C) (Linskens y Esser, 1957). El citoplasma contiene retículo endoplasmático rugoso y liso, vacuolas, mitocondrias en forma de varillas, proplastidios que contienen almidón, ribosomas y dictiosomas.

En la zona nuclear se localizan la célula generativa y el núcleo vegetativo; la primera se divide en dos núcleos espermáticos en el momento de la fecundación y el segundo es el encargado del crecimiento del tubo polínico.

La zona de vacuolización y de formación de la placa de calosa se encuentran al final del tubo polínico, próximas al grano de polen. La acumulación de vesículas del complejo de Golgi en el ápice del tubo polínico, responsable del crecimiento del mismo, se debe al gradiente de Ca^{+2} que se establece entre ambos extremos, base y ápice del tubo, y se halla regulado por los canales de Ca^{+2} y por los sistemas Ca^{+2} -ATPasas (Derksen *et al.*, 1999). Geitmann (1999) propuso que tras la acumulación y fusión de las vesículas en la zona apical del tubo, con el consiguiente incremento de membrana, se produce una relajación simultánea de ésta. De este modo, el potencial hídrico en el interior del tubo se reduce por una disminución de la presión sobre la membrana, lo que induce una entrada de agua hasta que el potencial hídrico se iguala al del exterior promoviendo así la elongación del tubo. La acumulación de Ca^{+2} en el interior del tubo polínico estableciendo un gradiente de concentración de solutos con el exterior contribuye a la reducción del potencial hídrico interno y, por tanto, a la entrada de agua. Tras la elongación, el sistema se estabiliza hasta que por efecto de la acumulación de nuevas vesículas de Golgi en el ápice se reinicia el ciclo. Geitmann (1997) relacionó la relajación si-

multánea de la pared con el ácido indolacético (AIA). El efecto de la auxina sobre el crecimiento del tubo polínico ha sido estudiado y se ha demostrado que a bajas concentraciones ($<10\mu\text{M}$) estimula su desarrollo (Konar, 1958; Dhawan y Malik, 1981; Li, 1990); sin embargo, cuando su concentración es elevada ($>100\mu\text{M}$) puede llegar a inhibirlo (Kwan *et al.*, 1969; McLeod, 1975; Dhingra y Varghese, 1985; Geitmann, 1997). En los cítricos hemos comprobado que la germinación del tubo polínico en condiciones *in vitro* se inhibe para concentraciones de 30 mg/l de AIA. La alteración del ritmo de los pulsos o de la turgencia celular a través de modificaciones de la resistencia de la membrana (Geitmann, 1997) puede ser la causa de este efecto inhibitor del AIA sobre el desarrollo del tubo polínico.

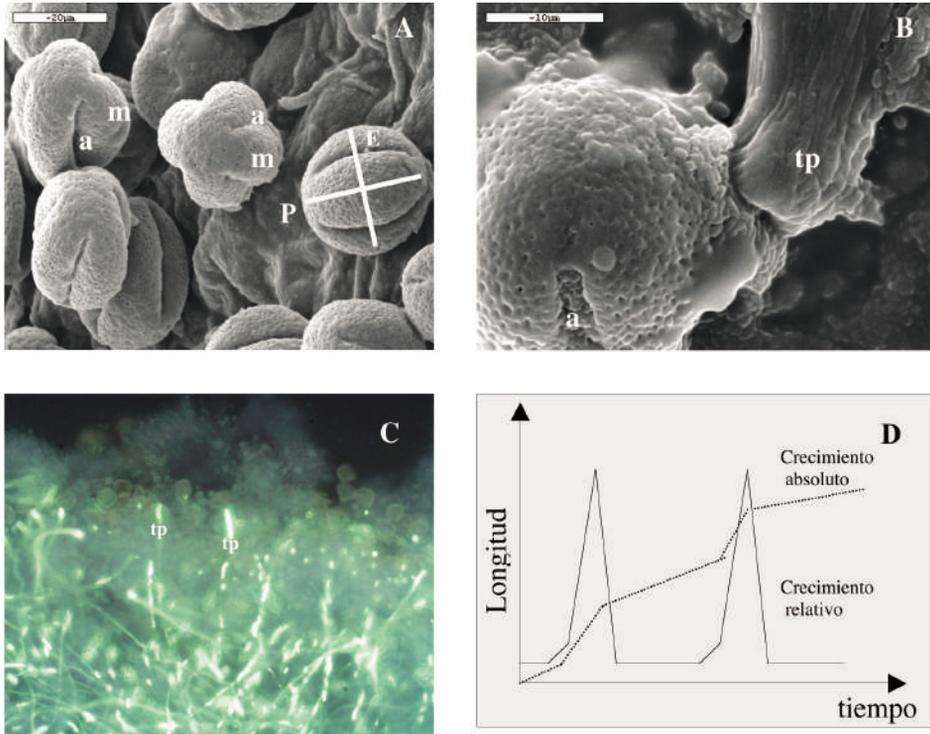


Foto 8. Microfotografía electrónica de barrido de granos de polen de mandarina Clementina, cv. 'Clemenules' (A, 2000x) y de la germinación *in vitro* de polen de mandarina Clementina, cv. 'Hernandina' (B, 3500x). Microfotografía al microscopio óptico de fluorescencia de la germinación *in vivo* de polen de *Citrus limon*; los tubos polínicos contienen calosa en su pared y ésta fluoresce cuando se la tiñe adecuadamente y se la ilumina con luz UV (C, 2000x). Esquema del modelo hipotético de crecimiento del tubo. Adaptado de: Geitmann, 1999 (D). P: eje polar; E: eje ecuatorial; a: apertura; m: mesocolpo; tp: tubo polínico.

2•1•2 La fecundación

Cuando el tubo polínico alcanza el saco embrionario a través del micropilo, su célula generativa se ha dividido en dos núcleos espermáticos haploides. Uno de ellos penetra en el saco embrionario y se fusiona con la ovocélula, también haploide. Esta fusión genera un cigoto, diploide, que se divi-

de dando lugar al proembrión. Las células delanteras orientadas hacia el centro del saco embrionario se dividirán sucesivamente hasta formar el embrión. El resto del proembrión se divide formando un tejido llamado suspensor, encargado de acercar al embrión hacia el tejido nutritivo en formación o endospermo. El segundo núcleo espermático se fusiona con el núcleo secundario del saco embrionario, diploide, dando lugar a un núcleo endospermico, triploide, que forma el endospermo. De los tegumentos se forma la testa o espisperma que rodea al resto de tejidos para formar la semilla.

El endospermo resulta vital para el desarrollo del embrión una vez la semilla ha madurado e inicia la germinación. Aquel acumula almidón, durante el crecimiento, propiciado por el efecto sumidero que confiere el embrión a través de la síntesis de giberelinas. De ello se aprovechan el resto de los tejidos del fruto para acumular carbohidratos, reclamar agua y, así, crecer.

Una vez producida la fecundación, el ovario deja de ser propiamente ovario para convertirse en fruto. La transición de ovario a fruto en desarrollo recibe el nombre de cuajado. El proceso está basado en la división celular y exige una gran cantidad de energía. Es mediante la síntesis hormonal que el fruto en desarrollo reclama dicha energía en forma de carbohidratos. En las variedades con semillas la síntesis de giberelinas que tiene lugar en los óvulos fertilizados es el estímulo que controla el desarrollo inicial del fruto (Talón *et al.*, 1990), de modo que su eliminación o la emasculación, que evita su formación, detienen el desarrollo del fruto y provocan su abscisión. Pero en estos casos, la aplicación de ácido giberélico restituye el crecimiento (Agustí, 2000b). Además, la utilización de un inhibidor de la síntesis de giberelinas, el paclobutrazol, provoca la abscisión de los frutos (Ben-Cheikh *et al.*, 1997). Estas evidencias sugieren que las giberelinas endógenas son las principales responsables del cuajado del fruto en los cítricos

Pero no se puede atribuir exclusivamente a las semillas la regulación del desarrollo del ovario (Agustí, 2000b). En efecto, la mayor parte de las variedades cultivadas para consumo en fresco no poseen semillas y son, por tanto, capaces de desarrollar frutos sin el estímulo de éstas.

2•1•3 La partenocarpia

Los factores ambientales pueden provocar el cuajado partenocárpico, pero es la esterilidad de origen genético, gamética, homocigótica o citológica, la principal responsable de esta alternativa a la fecundación.

La esterilidad gamética consiste en la incapacidad de producir óvulos o polen fértil. En el primer caso se denomina ginoesterilidad y en el segundo androesterilidad. En los cítricos, tanto la mandarina Satsuma como el grupo de naranjas dulces Navel son ejemplos de androesterilidad. Ésta puede ser inducida por las condiciones ambientales, como ocurre en algunos limoneros. En la esterilidad homocigótica tanto el polen como los óvulos son fértiles, sin embargo, aparecen mecanismos de incompatibilidad, ligados a sistemas de reconocimiento genético polen-pistilo, que interfieren el desarrollo del tubo polínico impidiendo la fecundación. Si la incompatibilidad ocurre en flores de una misma planta o entre dos plantas de un mismo cultivar se denomina autoincompatibilidad. Si, por el contrario, la incompatibilidad es entre dos plantas de distinto cultivar se denomina incompatibilidad de cruce. Por otra parte, la incompatibilidad homocigótica puede ser gametofítica o esporofítica. Cuando es gametofítica el polen es capaz de germinar en el estigma de la flor, pero en el estilo empiezan a sintetizarse RNA-asas que penetran en el tubo polínico y descomponen su RNA, deteniendo su crecimiento (McClure *et al.*, 1990). En la incompatibilidad esporofítica el polen es incapaz de germinar en el estigma, en el que, en este caso, se sintetizan kinasas, enzimas que impiden su germinación (Nasrallah *et al.*, 1994). Por último, en la esterilidad citológica se producen alteraciones cromosómicas en la meiosis, durante la gametogénesis, que hacen disminuir la capacidad germinativa del polen. Este tipo de esterilidad no impide el desarrollo del fruto, pero sus semi-

llas no pasan de ser meros rudimentos seminales, como ocurre en manzanos y perales (Agustí, 2000a). En la tabla 1 se presenta la situación al respecto para las especies de cítricos cultivadas.

Tabla 1. La esterilidad de los cítricos cultivados en España. Fuente: Soler, 1999.

Variiedad	Polen	Desarrollo embrión	Compatibilidad
Grupo Navel	Estéril	Aborta	-
Grupo Sanguinas	Estéril	Aborta	-
Grupo Blancas	Viable	Normal	Compatible
Clementinas	Viable	Normal	Autoincompatible
Satsuma	Estéril	Normal	-
Limonero	Viable	Normal	Compatible
Pomelo	Viable	Normal	Compatible
Híbridos	Viable	Normal	Autoinc. parcial

La polinización, la germinación del grano de polen o el desarrollo inicial del tubo polínico, sin que en ningún caso se alcance la fecundación, constituyen en ocasiones estímulos suficientes para que se inicie el desarrollo del ovario sin semillas. En estos casos la partenocarpia se define como estimulada, pero la aplicación de técnicas específicas de cuajado (tratamientos con ácido giberélico o rayado de ramas) es imprescindible para obtener cosechas económicamente rentables (ver apartado 2.3). El desarrollo del ovario sin ningún estímulo externo se define como partenocarpia autónoma, como ocurre en la mandarina Satsuma.

Como se ha dicho más arriba, en estas variedades en las que se desarrollan frutos sin semillas no se puede atribuir a éstas el estímulo de su crecimiento que, sin embargo, continua siendo regulado hormonalmente (El-Otmani *et al.*, 1995). Talón *et al.* (1990) demostraron que el naranjo dulce cv. 'Salustiana', sin semillas, mantenía el mismo patrón evolutivo de giberelinas internas en sus ovarios que el naranjo dulce cv. 'Blanca', con semillas (Figura 3). En las variedades sin semillas son las paredes del ovario, que posteriormente darán lugar a la corteza del fruto, las que sintetizan las giberelinas necesarias para el cuajado (Monselise, 1977).

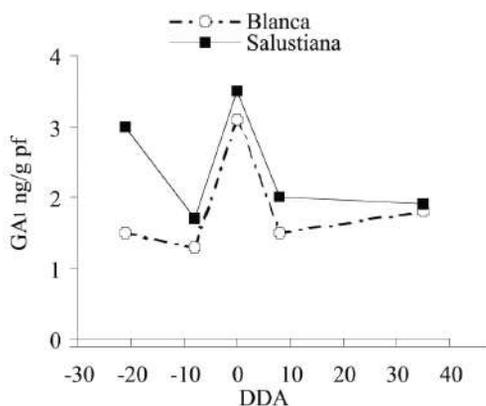


Figura 3. Concentración de GA₁ determinada por GC-MS durante el principio del desarrollo de los órganos reproductivos de *Citrus sinensis* cvs. 'Blanca' (con semillas) y 'Salustiana' (sin semillas). DDA: Días después de la antesis. Adaptado de Talón *et al.*, 1990.

Pero no todas las variedades de cítricos sin semillas poseen la misma capacidad de cuajado partenocárpico. Talón *et al.* (1992), al comparar variedades sin semillas con diferente partenocarpia natural, demostraron que las que poseían contenidos significativamente inferiores de giberelinas en sus ovarios eran las que fructificaban con mayor dificultad. Así se entiende que todas las variedades de cítricos no presenten la misma sensibilidad a las aplicaciones exógenas de ácido giberélico para aumentar el cuajado de sus flores (Tabla 2).

Tabla 2. Respuesta de diferentes cvs. de cítricos a las aplicaciones exógenas de ácido giberélico para mejorar el cuajado del fruto bajo las condiciones climáticas de la costa mediterránea española. Fuente: Talón *et al.*, 1999.

Cultivar	Efecto	Cultivar	Efecto
Naranjas		Mandarina Clementina	
W. navel	Nulo	Loretina	Notable
Navelina	Nulo	Marisol	Nulo ²
Navelate	Escaso ¹	Oronules	Notable
Lanelate	Nulo ²	Clemenpons	¿?
Pineapple	Nulo	Beatriz	¿?
Salustiana	Nulo	Arrufatina	Escaso
Valencia	Nulo	Esbal	Posible-Nulo
Híbridos		Oroval	Notable-Escaso
M. Nova	Nulo	Fina	Notable
T Minneola	Nulo	Clemenules	Notable
M. Fortune	Escaso-Nulo	Hernandina	Escaso
T. Ellendale	Escaso	Mandarina Satsuma	
T. Ortanique	Nulo	Owari	Nulo
		Okitsu	Nulo
		Clausellina	Nulo

¹Aumenta considerablemente en combinación con el rayado de ramas
²En algunos casos se realizan tratamientos, aunque sin resultados consistentes

2•2 FACTORES QUE DETERMINAN EL CUAJADO

2•2•1 Factores endógenos

2•2•1•1 Competencia. Disponibilidad de carbohidratos.

El cuajado y desarrollo inicial del fruto depende, entre otros factores, de los efectos de competencia establecidos entre el número de flores en desarrollo. En la mayor parte de las variedades en cultivo, el déficit de cuajado sólo se presenta cuando la planta florece mucho pero también es posible encontrar cosechas reducidas cuando la planta florece muy poco. En el primer caso, es incapaz

de nutrir a todos los ovarios que inician el desarrollo y la mayor parte de éstos se desprenden del árbol, reduciéndose significativamente la cosecha. En el segundo, la reducción del número de flores siempre está relacionada con un número muy elevado de frutos cosechados (alternancia de cosechas)(Moss,1971); la acción de éstos puede ser a través de un efecto nutricional, reduciendo la acumulación de reservas previa a la diferenciación floral, o a través de una inhibición de la floración provocada por la síntesis de giberelinas que tiene lugar en los frutos (Bellato *et al.*, 1998). La solución a ambos problemas es diferente y con eficacia, a su vez, distinta.

La floración de las plantas es consecuencia de un conjunto de factores promotores e inhibidores, la mayor parte de los cuales son desconocidos. Para que un cítrico florezca es necesario que estén presentes los factores promotores y, al mismo tiempo, estén ausentes los factores inhibidores. Ante la ausencia de los primeros la planta no florecerá, o lo hará poco intensamente. Pero si algún factor inhibidor está presente el árbol tampoco florecerá. Bastará conocer, por tanto, alguno de los factores inhibidores y aplicarlo adecuadamente para reducir la floración. Esta es la razón por la que, en condiciones agronómicas, inhibir la floración resulta fácil, mientras que promoverla es difícil.

Particularmente importante resulta el problema de la alternancia de cosechas, sobre todo en las variedades con semillas. La síntesis de giberelinas que tiene lugar en éstas se ha sugerido como el factor más importante responsable de la reducción de su floración tras un año de elevada cosecha (Figura 4). Pero algunas variedades sin semillas también presentan este problema; generalmente son variedades seleccionadas a partir de otras que sí las poseían y de las que han heredado este carácter. El aclareo de frutos en las primeras fases de su desarrollo (Goldschmidt *et al.*, 1985) y el rayado de ramas (Furr y Armstrong, 1956; Agustí *et al.*, 1992), son las técnicas más eficaces para incrementar la floración de los árboles alternantes hasta niveles compatibles con una buena cosecha. En el naranjo dulce 'Salustiana', con un marcado grado de alternancia, cuando el rayado de ramas se efectúa entre 90 y 120 días después de la antesis, el número de flores puede aumentarse casi cuatro veces (Agustí *et al.*, 1992), reduciéndose de este modo, hasta casi anularse, el efecto de alternancia.

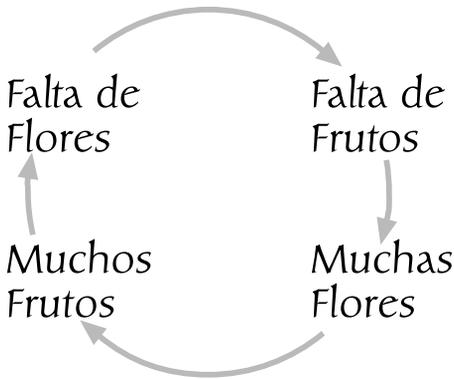


Figura 4. Esquema de la alternancia de cosechas en cítricos.

Pero mucho más frecuente resulta el problema contrario, es decir, un exceso de flores. Este se presenta como consecuencia de cosechas reducidas. La ausencia de frutos es la causa de una falta de con-

trol de la floración, y el exceso de flores se traduce en una reducción de la cosecha que reinicia el ciclo (Figura 5). En estos casos, la intensidad de la competencia entre flores en desarrollo es responsable de la disminución del número de las que iniciaron el desarrollo, así como del reducido tamaño final del fruto.

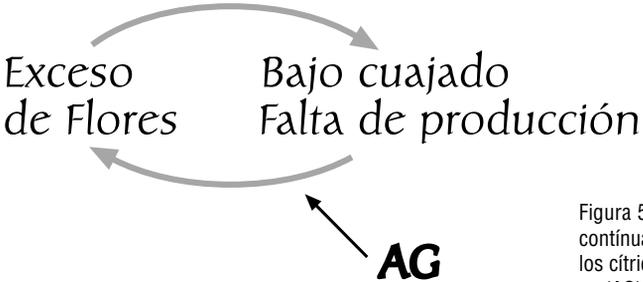


Figura 5. Esquema de la falta de producción continua originada por el exceso de flores en los cítricos. Sólo la adición de ácido giberólico (AG) puede resolver el problema.

Una prueba de este efecto de competencia la aporta la relación entre la intensidad de floración, el cuajado y la cosecha final (Tabla 3). Con la reducción de la floración aumenta el cuajado inicial, es decir, el número de ovarios que inician el desarrollo como frutos, y el cuajado final o porcentaje de flores que acaban dando lugar a un fruto maduro. El número de frutos cosechados, por tanto, también aumenta.

Tabla 3. Influencia de la intensidad de floración sobre el cuajado y producción del naranjo dulce 'Navelate'. (Fuente: Agustí *et al.*, 1982b)

Flores (miles/árbol)	Cuajado inicial (% flores)	Cuajado final (frutos/100 nudos)	Cosecha (frutos/árbol)
124,2 d	7,2 a	0,15 a	185 a
62,1 c	21,5 b	0,62 b	390 b
37,4 b	38,3 b	1,15 b	426 b
7,5 a	60,3 c	6,00 c	450 b

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Este efecto de la intensidad de floración sobre el cuajado es general para todas las especies y variedades y para todas las condiciones climáticas. Experimentos realizados con el Tangor 'Ellendale' en España y Uruguay, coordinadamente, indican un descenso del porcentaje de flores cuajadas a medida que la floración es más intensa (Gravina *et al.*, 1996; Figura 6), con independencia del área de cultivo. Es más, buena parte de las curvas correspondientes a ambos países es común, indicando que la respuesta para árboles de tamaño similar y cultivo semejante es endógena.

Este efecto de la intensidad de floración sobre el porcentaje de flores que cuajan, refleja la capacidad de la planta para nutrir a los ovarios que han iniciado su desarrollo como frutos. Cuando la

planta no es capaz de satisfacer la demanda de todos, parte de ellos se desprenden; así, aquellos que crecen más lentamente son los que tienen mayor probabilidad de caer (Aznar *et al.*, 1995a; Figura 7).

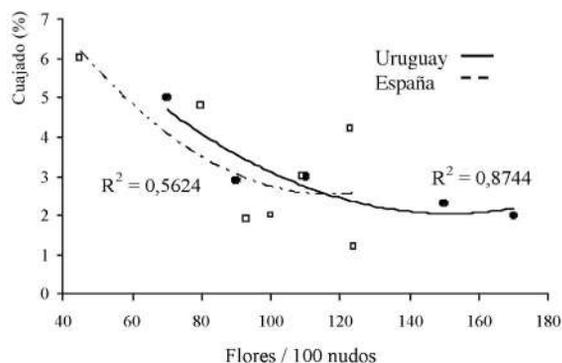


Figura 6. Relación entre la intensidad de floración y el cuajado en el Tangor 'Ellendale'. Resultados correspondientes a dos áreas cítricas.

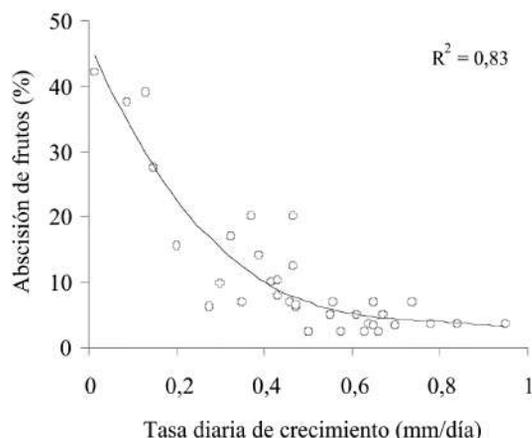


Figura 7. Relación entre la tasa diaria de crecimiento del fruto y el porcentaje de abscisión en los cítricos. Resultados para el naranjo dulce 'Navelina'.

Para evitar alcanzar intensidades de floración tan elevadas que lleguen a comprometer el cuajado y disminuir significativamente la cosecha, se realizan tratamientos hormonales basados en la aplicación de ácido giberélico (AG). La acción de las giberelinas en la inhibición de la floración fue demostrada por Monseville y Halevy (1964) cuando consiguieron reducirla de forma significativa en el naranjo dulce 'Shamouti'.

La eficacia de las aplicaciones de AG depende de la época del tratamiento. Bajo el punto de vista agronómico, en los cítricos existen dos momentos de mayor sensibilidad; una primera época, durante el reposo vegetativo (Foto 9A), desde mediados de noviembre hasta principios de diciembre en nuestras condiciones de cultivo, y una segunda que tiene lugar al inicio de la brotación. Este último periodo es más breve y la aplicación debe realizarse en el momento que hinchan las yemas (Foto 9B), ya que el adelanto del tratamiento no provoca respuesta y si la planta ya ha iniciado el desarrollo de sus flores (Foto 9C) el proceso es irreversible y tampoco es posible inhibir la floración.

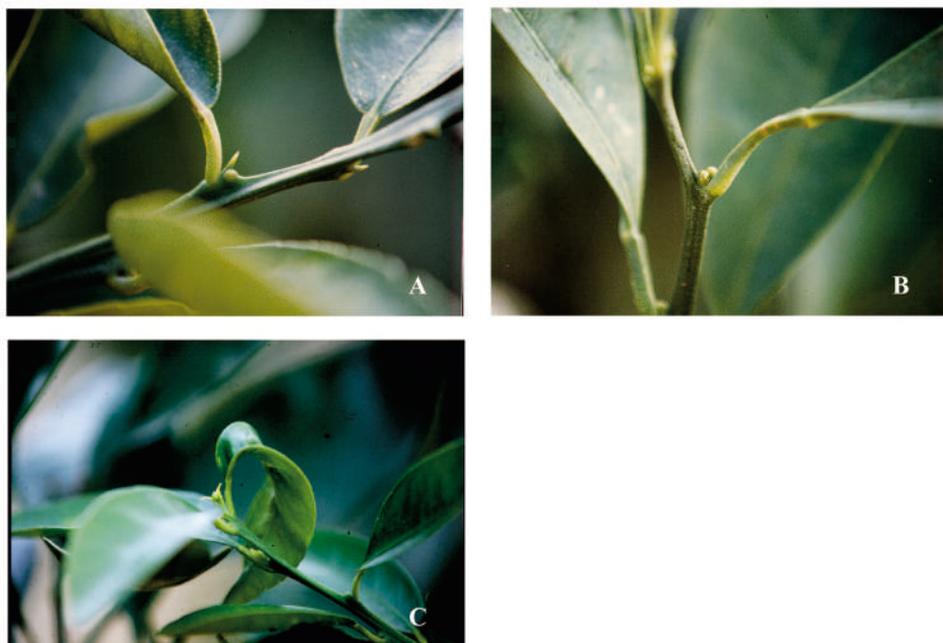


Foto 9. Tres estados de desarrollo de las yemas en relación a las aplicaciones de AG para inhibir la floración. A: yema en estado de reposo vegetativo (estado 00, BBCH), las aplicaciones entre mediados de noviembre y principios de diciembre reducen la floración siguiente. B: inicio de la brotación, inicio del hinchado de yemas, momento adecuado para inhibir la floración (estado 01, BBCH). C: la diferenciación floral ya ha tenido lugar (estado 54, BBCH), en este estado los tratamientos para inhibir la floración son ineficaces.

Guardiola *et al.* (1977), en experimentos realizados en árboles de naranjo dulce 'Navelate' con tendencia a florecer profusamente (114000 flores árbol⁻¹), consiguieron reducir la floración en un 30% con la aplicación de 25 mg l⁻¹ de AG durante el reposo vegetativo (Foto 9A). Concentraciones superiores, 50 y 100 mg l⁻¹, no siempre mejoraron significativamente la respuesta, dando lugar a una reducción de la floración del 30% y del 45%, respectivamente. Un resumen de la eficacia de estos tratamientos para mandarinas, naranjo dulce e híbridos se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4. Efecto de la aplicación de AG durante el reposo vegetativo sobre la floración de distintos cvs. de cítricos.

Especie y cv.	% inhibic.	[AG]	Referencia
Naranjo 'Shamouti'	76	200 ppm (3 veces)	Monselise y Halevy, 1964.
	92	200 ppm (4 veces)	
Naranjo 'Shamouti'	60	0.075 µg/yema	Goldschmidt y Monselise, 1972.
Naranjo dulce 'Valencia Late'	54.5	50 ng/ml (3 veces)	Moss y Bellamy, 1973.

.../...

.../...

Especie y cv.	% inhibic.	[AG]	Referencia
Naranja dulce 'Navelate'	76.2	100 ppm	Guardiola <i>et al.</i> , 1977.
	48	100 ppm	
	27	50 ppm	
	30	25 ppm	
	45	25 ppm	
M. Satsuma	54	0.03 mM	García-Luis <i>et al.</i> , 1986.
Mandarino Clementino	12.4	20 ppm	Deidda y Agabbio, 1977.
Tangor 'Ellendale'	39.4	20 ppm	Gravina <i>et al.</i> , 1994.
	45.2	20 ppm	
Tangor 'Ellendale'	45.7	75 ppm	Arias, M. 1999.
Naranja dulce 'Salustiana'	55.6	75 ppm	
M. Clementino cv. 'Hernandina'	70.1	50 ppm	Martínez-Fuentes <i>et al.</i> , 2003.
M. Clementino cv. 'Marisol'	14	50 ppm	
M. Clementino cv. 'Orogrande'	38.1	50 ppm	
M. Clementino cv. 'Hernandina'	28.5	50 ppm	

Las características de los brotes, definidos por el número medio de sus flores y hojas, no son alteradas por la aplicación de ácido giberélico (Tabla 5).

Tabla 5. Influencia de las aplicaciones invernales de ácido giberélico en las características de los brotes de naranja dulce cv. 'Navelate'. No existen diferencias significativas entre los tratamientos en ningún caso. Fuente: Agustí, 1980.

Tratamiento	BV	BC	Flores/brote	RM	Flores/hojas	RF
	Hojas/brote	Hojas/brote		Hojas/brote		Flores/brote
Control	4.8	3.1	4.7	2.2	2.09	4.1
AG 25 mg l ⁻¹	4.7	2.8	4.6	2.4	1.96	4.0
AG 50 mg l ⁻¹	4.9	2.9	5.0	2.6	1.97	4.3

Esta respuesta es consecuencia de la reducción de la brotación que el tratamiento provoca (Guardiola *et al.*, 1977), de un modo similar a como lo hace la presencia del fruto (Moss, 1971). Asimismo, viene acompañada de una redistribución de ésta, aumentando el número de brotes con hojas, florales o vegetativos, y reduciendo el de brotes sin hojas (Tabla 6; Foto 10). La reducción de la floración y la redistribución de la brotación, explican, conjuntamente, el incremento del cuajado espontáneo y de la cosecha (Tabla 6).

Tabla 6.- Efecto de la aplicación de AG sobre la floración, el número de brotes desarrollados y la cosecha de árboles de naranjo dulce 'Navelate'. Tratamientos realizados durante el reposo vegetativo. ¹ Finales de noviembre; ² Finales de diciembre. Valores expresados en miles de flores y brotes por árbol. RF: ramos de flor; BM: brote mixto; BC: brote campanero; FS: flor solitaria; BV: brote vegetativo. Letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$). Fuente: Agustí, 1980.

Tratamiento	flores	Brotes desarrollados					Cosecha (Kg/árbol)
		RF	BM	BC	FS	V	
Control	114.5 b	17.5 b	6.3	1.2 a	14.3 b	3.5	27.6 a
¹ AG 25 mg l ⁻¹	62.9 a	8.2 a	4.2	2.0 b	7.6 a	4.8	85.5 b
² AG 25 mg l ⁻¹	80.3 a	10.6 a	5.3	1.5 ab	5.8 a	3.5	93.5 b



Foto 10. Brotación y floración característica del naranjo dulce. A, tras un año de escasa cosecha: predominio de brotes multiflorales sin hojas. B, tratado con AG: (25 mg l⁻¹) durante el reposo vegetativo: predominio de brotes uniflorales con hojas y vegetativos.

Otras hormonas, como el 2,4-D, tienen un efecto similar sobre la inhibición de la floración en los cítricos. La aplicación de esta auxina de síntesis (12 mg l⁻¹) durante el reposo vegetativo provoca una reducción significativa de la floración en el naranjo dulce 'Navelate' de más de un 30% (Figura 8). A pesar de ello, la posibilidad de que, en condiciones de cultivo, la eficacia de esta sustancia se derive del retraso en la recolección no puede descartarse.

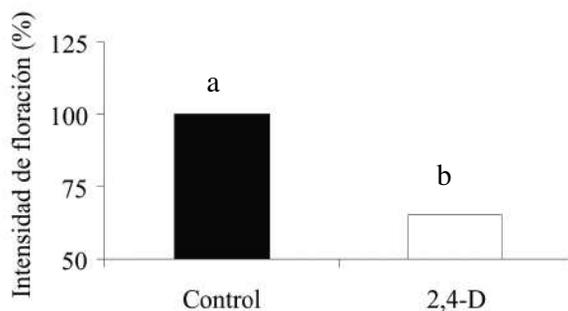


Figura 8.- Intensidad de floración en el naranjo dulce 'Navelate'. Efecto del 2,4-D (12 mg l⁻¹) aplicado durante el reposo vegetativo. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Adaptado de Guardiola *et al.*, 1977.

La aplicación de 10 mg l⁻¹ de AG al inicio de la brotación tiene el mismo efecto, esto es, una reducción de la floración que puede alcanzar valores superiores al 50% (Guardiola *et al.*, 1982). Este resultado se ha demostrado en todas las variedades ensayadas: Naranja dulce 'Navelina' y 'Navelate', M. Clementino y M. Satsuma (Guardiola *et al.*, 1980). Pero la época de aplicación, como se ha dicho, resulta más concreta y dificulta la decisión de realizar el tratamiento, ya que no todas las yemas están en el mismo estado fenológico a la vez y una vez los primordios florales son visibles la respuesta desaparece. Se hace necesaria, por tanto, una evaluación previa del porcentaje de yemas que se encuentran en el estado fenológico óptimo. Un resumen de la eficacia de este tratamiento se presenta en la Figura 9.

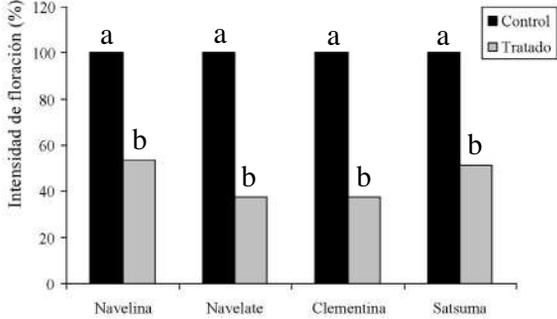


Figura 9.- Efecto de la aplicación de AG (10 mg l⁻¹) al inicio de la brotación sobre la intensidad de la floración en distintos cvs. del género *Citrus*. Letras distintas en cada variedad indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$). Adaptado de Guardiola *et al.*, 1980.

En esta época el 2,4-D tiene consecuencias desfavorables sobre el desarrollo foliar (Foto 11) y, por tanto, no debe utilizarse.



Foto 11. Efecto de la aplicación de 2,4-D (15 mg l⁻¹) al inicio de la brotación sobre el desarrollo foliar del naranjo dulce.

A pesar de la eficacia de los tratamientos presentados, esta técnica no siempre tiene el efecto esperado y la tendencia de la planta a florecer de forma intensa, tras una escasa cosecha, condiciona la respuesta. En ocasiones, la floración puede reducirse pero no hasta niveles capaces de con-

seguir un cuajado adecuado (Tabla 7). Así, en algunos casos, como el del Tangor 'Ellendale', la aplicación de 50 mg l⁻¹ consigue reducir la floración siguiente, que pasa de 183 a 132 flores por 100 nudos en nuestros experimentos, nivel todavía inadecuado bajo el punto de vista agronómico.

Tabla 7.- Limitaciones del efecto del AG sobre la floración. Fecha del tratamiento: ¹ reposo vegetativo, ² inicio brotación.

Flores / 100 nudos				
	Control	Tratado		
		20 mg l ⁻¹	25 mg l ⁻¹	50 mg l ⁻¹
Mandarino Fortune	199	189 ¹	-	-
		177 ²	-	-
Tangor Ellendale	182.8	-	191.2 ¹	132 ¹

Estos resultados coinciden con los de Gravina *et al.* (1997) en el mismo cultivar, y en los que 20 mg l⁻¹ de AG, aplicados durante el reposo vegetativo, redujeron la floración desde 250 a 210 flores por 100 nudos, nivel incompatible con un cuajado adecuado.

Otra prueba de la importancia de los fenómenos de competencia en el cuajado la aporta la capacidad que tiene la flor para desarrollarse en fruto según los diferentes tipos de brote (Tabla 8). Esta es mayor en los brotes con hojas, que aportan un 75-80% de los frutos, aproximadamente, a la cosecha.

Un aspecto de interés, lo constituye el seguimiento de la evolución de los diferentes tipos de brotes. En efecto, en la mayor parte de los brotes multiflorales, con y sin hojas, solamente una flor acaba siendo fruto maduro; particularmente importante es este fenómeno en el caso de los RF en los que de cerca del 20% de los inicialmente formados que dan lugar a algún fruto, solamente el 3,9% se mantienen funcionales, mientras que el resto da un solo fruto y se computan, finalmente, junto con los procedentes de flores solitarias que, lógicamente, aumentan. Y algo similar ocurre con los brotes mixtos y campaneros. Pero en todo caso, se mantienen dos aspectos clave: 1) Los brotes con hojas cuajan, conjuntamente, en mayor proporción, 80,4% frente al 21,6% de los brotes sin hojas; y 2) Los brotes uniflorales aportan mayor porcentaje de frutos a la cosecha, 56,8% frente a 43.1% de los brotes multiflorales. La presencia de hojas, por una parte, y el número de flores, por otra, son determinantes del cuajado y la cosecha final.

Tabla 8. Aportación de los diversos tipos de brotes a la cosecha en el naranjo dulce cv. 'Navelina'

ORIGEN DE LOS FRUTOS		
TIPO DE BROTE	REAL	FUNCIONAL
Varias flores, sin hojas (RF)	19,6 b	3,9 a
Una flor, sin hojas (FS)	2,0 a	23,5 b
Varias flores, con hojas (BM)	78,4 c	39,2 c
Una flor, con hojas (BC)	2,0 a	33,3 c
Signif.	1%	5%

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

La importancia de la presencia de hojas en este proceso ha sido demostrada, convincentemente, por Mehouchi *et al.* (1995). La eliminación de las hojas de árboles de mandarina Satsuma cvs. 'Clausellina' y 'Okitsu', en antesis, es decir, al inicio de la fase I del desarrollo del fruto, provocó la abscisión de frutos en cuantía aproximada a la intensidad de la defoliación (Figura 10). Así, cuando se eliminaron el 100% de las hojas, la abscisión de frutos fue, también, del 100%, mientras que cuando sólo se eliminaron el 50% de las hojas, la abscisión se situó entre el 100% y los valores registrados en los controles sin defoliar (52%). La determinación de los carbohidratos indicó que, inicialmente, la defoliación no alteró el contenido en sacarosa de los frutos en desarrollo, pero cuando éstos iniciaron su crecimiento exponencial su contenido fue alterado significativamente. Así, en el cv. 'Clausellina', los frutos de árboles sin defoliar contenían 13,1 mg g⁻¹ de materia seca a los 42 días de la antesis, mientras que en los defoliados parcialmente el contenido era de 8,9 mg g⁻¹ y en los totalmente defoliados de 4,8 mg g⁻¹. Ello, además, se correspondía con variaciones significativas en el tamaño del fruto, mayor en los árboles sin defoliar. Sin embargo, los contenidos en glucosa y fructosa, así como en almidón, apenas fueron alterados por la ausencia de hojas. Los resultados obtenidos en el cv. 'Okitsu' fueron semejantes. Por tanto, los frutos durante la fase de división celular utilizan los carbohidratos como fuente de energía para atender al proceso, mientras que durante la fase de expansión celular los acumulan. La transición entre estas dos fases coincide con la caída fisiológica de frutos. En este momento crítico, la sacarosa correlaciona positivamente con el crecimiento del fruto y negativamente con su abscisión.

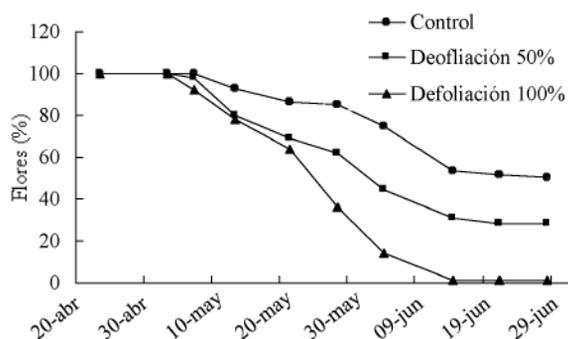


Figura 10. Influencia de la presencia de hojas en el porcentaje de flores y frutos que permanecen en el árbol. Valores para la mandarina Satsuma cv. 'Clausellina'. Fuente: Mehouchi *et al.* 1995.

La importancia de la disponibilidad de carbohidratos también ha sido demostrada indirectamente. En condiciones de adecuada humedad, la temperatura óptima para la asimilación neta de CO₂ en los cítricos se halla en el rango de 28°C-30°C (Kriedemann y Barrs, 1981). Sin embargo, la influencia térmica es muy escasa entre los 22°C y 30°C; pero si la temperatura foliar sube por encima de los 32°C la tasa de asimilación de CO₂ desciende, ya que afecta negativamente a la actividad de la ribulosa 1,5-difosfato carboxilasa/oxigenasa. Por otra parte, los cítricos cultivados en climas subtropicales, húmedos y de tipo mediterráneo, con inviernos fríos, presentan un período de reposo invernal y tienen la brotación más importante en primavera. No hay duda de que el desarrollo vegetativo compite con el de los frutos (Eissenstat y Duncan, 1992) y de que la intensidad de dicha competencia se refleja en la intensidad de la abscisión de frutos en desarrollo, en el tamaño del fruto, en la acumulación de reservas de carbohidratos y aún en la coloración del fruto. Ambos aspectos, influencia térmica sobre el crecimiento y competencia entre desarrollo vegetativo y reproductivo, enfatizan los problemas que se pueden derivar de una limitación en la fijación de CO₂, como son la alternancia de cosechas (Syvertsen y Lloyd, 1994) y una reducción del cuajado y del tamaño final del fruto.

2•2•1•2 Capacidad sumidero. Control hormonal

La actividad hormonal se ha explicado a través de la acción que ejercen algunas sustancias (hormonas) sobre la expresión de la información genética, la actividad enzimática y la funcionalidad de las membranas. El resultado final es consecuencia de la interacción entre todas ellas, unas promoviendo procesos, otras inhibiéndolos, y se traduce en el control del desarrollo (reguladores del desarrollo). En el caso de los frutos, dicho resultado depende tanto de la biosíntesis por el propio fruto de diversas hormonas, como del transporte a él o de la exportación a otras partes de la planta, y de su inactivación a través de su conjugación con otros compuestos o de su catabolismo. En la mayor parte de los casos las hormonas se sintetizan en las semillas y ejercen su acción a través del desarrollo de ellas. La excepción más notable son los frutos partenocárpicos, pero también en ellos el desarrollo está regulado hormonalmente. El-Otmani *et al.* (1995) han revisado la regulación hormonal endógena del desarrollo de los cítricos.

Los trabajos pioneros de Luckwill en los años 40, demostraron la presencia de auxinas en las semillas de las manzanas durante su desarrollo inicial. Aunque éstas no fueron relacionadas con el cuajado, sí lo fueron con la abscisión de frutos, previniéndola. En los años 50, Abbott consiguió demostrar que la eliminación de las semillas promovía la abscisión del fruto y que aquellas podían ser sustituidas en su acción por la adición de auxinas. Se había relacionado la persistencia y crecimiento del fruto con la presencia de las semillas y demostrado la acción de éstas por la existencia de sustancias reguladoras del desarrollo sintetizadas en ellas.

La mayor parte de las hormonas relacionadas con el cuajado se encuentran en las semillas. De hecho, en peras y mandarinas cuando se impide (mediante emasculación) la formación de éstas, el contenido en giberelinas de los frutos es menor que en aquellos que han desarrollado frutos normalmente. En el naranjo dulce, la polinización aumenta los niveles de giberelinas en los ovarios de variedades con semillas (Ben-Cheikh *et al.*, 1997). Pero el hecho de que variedades con una capacidad similar de cuajado, con y sin semillas, tengan contenidos, a su vez, semejantes de giberelinas (Talón *et al.*, 1990) indica que estas hormonas deben ser responsables del cuajado en los cítricos. El mecanismo ha sido estudiado, comparativamente, en la mandarina 'Satsuma', una especie con esterilidad gamética masculina pero con un elevado grado de partenocarpia natural y, por tanto, de cuajado, y en la mandarina 'Clementina', autoincompatible y con una baja capacidad de partenocarpia (Talón *et al.*, 1992), demostrándose que : a) la elevada capacidad partenocárpica de la mandarina 'Satsuma' y la reducida capacidad de cuajado de la mandarina 'Clementina', se hallan asociadas a contenidos endógenos de giberelinas elevados y bajos, respectivamente.; b) la aplicación exógena de giberelinas incrementa el cuajado en la mandarina 'Clementina', pero no tiene ningún efecto sobre la 'Satsuma'; c) la inhibición de la síntesis de giberelinas inducida por el paclobutrazol provoca la abscisión del fruto en ambas variedades; y d) la aplicación de giberelinas contrarresta esta acción del paclobutrazol en las dos. La conclusión de los autores es que son las giberelinas endógenas las que controlan el desarrollo partenocárpico del fruto de las mandarinas 'Satsuma' y 'Clementina'. En otras especies, como por ejemplo el plátano, la partenocarpia se ha asociado a las auxinas, y la aplicación exógena de éstas promueve el desarrollo de frutos partenocárpicos. La acción de las citoquininas como inductoras de la partenocarpia ha sido menos estudiada. Algunos autores señalan que su presencia en el fruto es consecuencia de su transporte desde las raíces mas que de su síntesis en las semillas en desarrollo. A pesar de ello, han podido ser aisladas de semillas de kiwi y de limón y, al menos en el naranjo dulce, se han mostrado eficaces en la formación de frutos partenocárpicos (Hernández-Miñana *et al.*, 1988).

Los inhibidores del desarrollo actúan impidiendo el desarrollo del fruto, esto es, provocando su abscisión. Como su presencia es general en todos los frutos, con semillas y sin semillas, su acción se entiende en interacción con los promotores, de modo que es el equilibrio entre ambos grupos de reguladores del desarrollo el que determina el cuajado y el desarrollo posterior del fruto. Su evolución en el fruto de la mandarina 'Satsuma' presenta un máximo en su concentración de auxinas totales a los 5-10 días después de la antesis, seguido hasta los 25-30 días de un descenso rápido y una pequeña recuperación antes del declive final (Takahashi *et al.*, 1975). El papel de las auxinas como sustancias que controlan la abscisión tiene aquí su reflejo al observar la caída fisiológica de los frutos; ésta se inicia 10 días después del máximo pico en la concentración de auxinas y alcanza su máxima intensidad 10-15 días después de que las auxinas hayan alcanzado su concentración más baja. La evolución del contenido en ácido abscísico (ABA) presenta dos máximos, uno a los 5-7 días de la antesis y otro a los 30-35 días (Takahashi *et al.*, 1975). Este incremento último, asociado al drástico descenso de la concentración de auxinas, antecede y debe ser la causa de la abscisión de frutos. Una relación causa-efecto entre concentración de ABA en los frutos y su abscisión se ha demostrado también para las clementinas. En variedades de mandarinas con semillas, en las que la caída fisiológica de frutos es inferior, la evolución de la concentración de auxinas es similar a la descrita, pero la de ABA es muy baja a lo largo de toda la fase I de crecimiento del fruto (García-Papí y García-Martínez, 1984).

La capacidad sumidero de los frutos, por tanto, está regulada genéticamente y es variable con las variedades. Durante la fase I de desarrollo del fruto es responsable del cuajado, facilitando el aporte de carbohidratos que garanticen la energía necesaria para atender a la división celular de los tejidos, mientras que en la fase II determina el tamaño final del fruto. En la primera el control corresponde a las giberelinas, en la segunda son las auxinas las que se han mostrado más eficaces. El Otmani *et al.* (1995; 2000) han revisado los conocimientos que se tienen sobre el control hormonal en el desarrollo de los agrios y sobre las aplicaciones de reguladores del desarrollo para su mejora.

2.3 ESTÍMULO DEL CUAJADO

A la vista de ello, la aplicación de giberelinas (ácido giberélico) a las flores de variedades de bajo índice partenocárpico, se ha desarrollado como una técnica eficaz para aumentar su producción (El-Otmani *et al.* 2000). La aplicación de 5 mg l⁻¹ a la mandarina 'Clementina', cuando el 90% de las flores han perdido los pétalos, incrementa significativamente el número de frutos recolectados; el incremento de la concentración hasta 10 mg l⁻¹, no mejora la respuesta, aunque sí reduce, significativamente, el tamaño final del fruto (Tabla 9). Aunque la respuesta es general en todas las parcelas, las que de modo natural son más productivas son las que mejor responden a las aplicaciones. La razón de ello es la presencia de los fenómenos de competencia entre frutos en desarrollo (ver apt. 2.2.1.1). En efecto, la aplicación de AG incrementa el número de frutos que inician el desarrollo, pero si éste es muy elevado, consecuencia de una floración intensa, la abscisión no se evita, aunque se pospone; por el contrario, si el número de flores es reducido, la competencia es baja y el número de ovarios que inician su desarrollo, tras la aplicación de AG, no sólo aumenta sino que persiste, en un mayor porcentaje, hasta la recolección.

Tabla 9. Efecto de la aplicación de ácido giberélico sobre la cosecha de la mandarina 'Clementina' y sus características. Influencia de la concentración.

	0 mg l ⁻¹	5 mg l ⁻¹	10 mg l ⁻¹
Nº frutos/árbol	1609 a	2309 b	2240 b
Peso/fruto (g)	37,5 a	35,5 ab	34,1 b
Kg/árbol	60,3 a	81,7 b	76,2 b

Tratamientos efectuados cuando el 90% de las flores habían perdido los pétalos. Subíndices distintos en una misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Una demostración de este fenómeno lo constituye la comparación de la respuesta a las aplicaciones de AG de árboles de naranjo dulce 'Navelate' con diferente nivel de floración (Agustí *et al* 1982a; Figura 11). La relación número de flores-cuajado inicial es negativa, como corresponde al proceso, pero las funciones que relacionan ambas variables tienen diferente pendiente según el árbol haya sido tratado o no con AG, de modo que las diferencias en el cuajado debidas a la aplicación de AG son evidentes cuando la floración es reducida; si ésta es muy intensa la eficacia del AG es inexistente. En los casos de elevada floración la reducción de ésta (ver apt. 2.2.1.1) resulta imprescindible para obtener una respuesta positiva a las aplicaciones de AG para incrementar el cuajado.

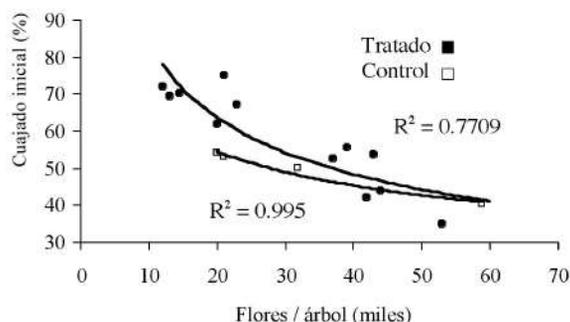


Figura 11.- Influencia de la intensidad de floración sobre la respuesta a la aplicación de AG (5 mg l⁻¹) en el naranjo dulce 'Navelate'. Fuente: Agustí *et al.*, 1982a.

Una técnica alternativa la constituye el rayado de ramas, práctica cultural consistente en marcar un anillo completo en la corteza de las ramas secundarias del árbol de, aproximadamente, 1 mm de anchura, sin afectar a la madera ni eliminar la corteza (Foto 12). Aunque se ha señalado un efecto hormonal derivado del rayado (Wallerstein *et al.*, 1973; Dann *et al.*, 1985), se acepta que su acción prioritaria es a través de una mejora en la disponibilidad de carbohidratos como consecuencia de la interrupción que provoca sobre el transporte floemático (Greene, 1937; Wallerstein *et al.*, 1978; Goldschmidt *et al.*, 1985).

La época más adecuada de aplicación del rayado se ha determinado en la mandarina 'Fortune' (Agustí *et al.*, 1997), y depende de la productividad del árbol. La mandarina 'Fortune' es una variedad autoincompatible y forma parte del grupo de mandarinas poco receptivas a las aplicaciones exógenas de giberelinas para promover el cuajado (Tabla 2), al menos en las condiciones climáticas mediterráneas. Aunque en esta variedad no se ha estudiado el contenido endógeno de giberelinas durante la floración y caída de pétalos, es de suponer que la falta de respuesta indicada se deba a la presencia de concentraciones suficientes de éstas, durante estas fases, para asegurar el cuajado de las flores.



Foto 12. El rayado de ramas consiste en realizar un corte alrededor de todo el perímetro de las ramas principales, afectando sólo a la corteza (A). La repetición en años sucesivos (B) no presenta problemas sanitarios, de decaimiento ni de productividad. Fotos correspondientes a una rama de mandarina 'Satsuma' (A) y de naranjo dulce 'Navelate' (B).

De hecho, observaciones previas han puesto de manifiesto que el porcentaje de flores que alcanza el estado de fruto es elevado, pero su crecimiento posterior es muy lento y la mayor parte de ellos no superan el período de abscisión y se desprenden de la planta durante la fase I de su desarrollo (Agustí y Almela, 1989). En estas condiciones, la producción de la mandarina 'Fortune' puede mejorarse cuando el rayado se efectúa 15 días antes de la antesis en las parcelas de baja productividad, ó 25 días después de la caída de pétalos, en cualquier parcela con independencia de su productividad (Tabla 10).

Tabla 10. Efecto de la época de rayado sobre la producción del mandarino 'Fortune'. Influencia de la productividad de la parcela. Fuente: Agustí *et al.*, 1997.

Época y días	PNP I	PNP II	PP I	PP II
Control	42	41	74	82
15 AA	96*	83*	78	85
A	79	74	95	88
CP	83	76	-	97
25 DCP	93*	78*	103*	105*
50 DCP	87	56	85	68

PNP: parcelas poco productivas; PP: parcelas productivas Valores expresados en Kg árbol⁻¹

A: Antítesis; AA: Antes de la antítesis; CP: Caída de pétalos; DCP: Después de la caída de pétalos

* indica diferencias significativas $p < 0,05$

El efecto más claro del rayado es la detención temporal o retraso de la abscisión (Monselise *et al.*, 1972). Es lógico, por tanto, que cuando se efectúa en plena caída fisiológica de frutos, esto es, a los 25 días, aproximadamente, de la caída de pétalos, dé los mejores resultados, ya que en este momento una parte importante de los frutos en desarrollo ya se han desprendido de la planta y de los que quedan retenidos en ella un porcentaje elevado consigue superar la fase I de su desarrollo (durante la que se produce la abscisión), cuya duración se ha establecido en unos 65 días desde la antesis (Mehouachi *et al.*, 1995). Los tratamientos anteriores también retardan la abscisión de los fru-

tos, pero éstos no consiguen superarla dada la duración del período que han de permanecer en el árbol hasta alcanzar la fase II de su desarrollo. Los tratamientos posteriores, cuando la casi totalidad de los frutos, o todos ellos, ya han sufrido la abscisión son, lógicamente, menos o muy poco eficaces.

La idea de que la movilización de carbohidratos desde las hojas viejas a los frutos jóvenes es esencial para el desarrollo de éstos (Moss *et al.*, 1972), ha sido demostrado, convincentemente, por Mehouchi *et al.* (1995) en sus experimentos de defoliación referidos más arriba. Sus resultados son coincidentes con la idea de que la restricción en la disponibilidad de carbohidratos por los frutos en desarrollo, consecuencia de una elevada competencia en aquellos árboles que florecen muy profusamente, es la causa de su abscisión masiva y de la falta de productividad. Es más, de este modo puede explicarse por qué el rayado mejora el cuajado, ya que, de acuerdo con el concepto más ampliamente aceptado, éste se ha relacionado con cambios en el transporte y acumulación de carbohidratos (Wallerstein *et al.*, 1978; Roper y Williams, 1989).

La eficacia lograda con el rayado de ramas 15 días antes de la antesis no tiene una explicación fácil. Se ha sugerido que el efecto del rayado sobre el transporte y distribución de carbohidratos requiere un tiempo para manifestar su actividad, que alcanzaría hasta la caída de pétalos, momento en que se lograría su acción plena (Agustí *et al.*, 1997). El hecho de que la respuesta al rayado 15 días antes de la antesis sólo se presente en las parcelas improductivas apoya esta hipótesis, ya que es en éstas en las que se establece la mayor competencia entre órganos en desarrollo. Estas parcelas son las que florecen con mayor profusión, como lo demuestra la relación inversa encontrada entre floración y fructificación. La acción del rayado alterando el contenido endógeno de giberelinas (Wallerstein *et al.*, 1973) y auxinas (Dann *et al.*, 1985) podría ser, también, la razón que explicara su acción cuando se efectúa en esta época.

Al igual que en el caso de las aplicaciones de AG, el rayado de ramas en condiciones extremas de elevada floración es incapaz de promover el cuajado (Figura 12), lo que indica que es la elevada competencia entre órganos en desarrollo la causa de la escasa capacidad de cuajado de estas plantas. En estas condiciones, la disponibilidad del fruto por carbohidratos se halla tan comprometida que mejorarla es, prácticamente, imposible y por eso el rayado de ramas resulta ineficaz. También en este caso la reducción de la floración (ver apt. 2.2.1.1) se hace necesaria, para aumentar el cuajado.

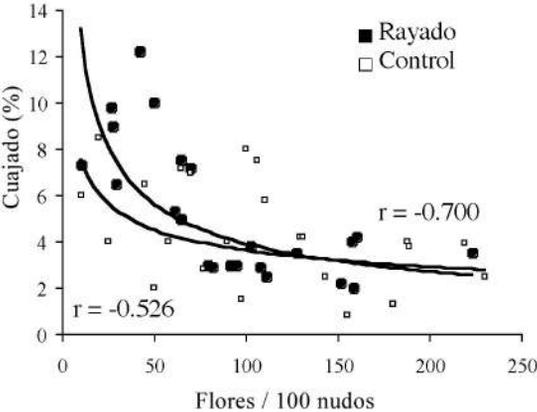


Figura 12. Relación entre la intensidad de floración y el cuajado mediante el rayado de ramas en el Tangor 'Ellendale'. Fuente: Gravingna *et al.*, 1996.

La aplicación de esta técnica a plantas en buen estado y con una floración adecuada, tiene una respuesta general en todas las variedades ensayadas. Así, en el naranjo dulce 'Navelate' se han conseguido incrementos del 30% en el número de frutos recolectados (Tabla 1). Pero más espectacular resulta su acción en mandarinas; en las 'Clementinas' se han logrado incrementos de hasta el 130%, y en los híbridos 'Ellendale' y 'Fortune' el número de frutos cosechados ha sido multiplicado, en nuestros experimentos, por 3,5 y por 8, respectivamente (Tabla 1). Como consecuencia del incremento en el número de frutos por árbol, el tamaño medio de éstos se ve reducido, pero dado que la cosecha que se obtiene con el rayado puede considerarse adecuada, el tamaño de los frutos, en general, también lo es. Y, en todo caso, es posible aumentar éste mediante técnicas específicas. El problema, sin duda, no es ese, sino la falta de productividad cuando no se aplica la técnica y los frutos anormalmente desarrollados y faltos de calidad que en esas condiciones se obtienen.

Tabla 11. Efecto del rayado de ramas efectuado 25-30 días después de la antesis sobre el número de frutos cosechados en diferentes variedades de cítricos.

	Control	Rayado
N. Navelate	436	563
M. Clemenules	387	909
M. Oroval	481	677
M. Fortune	88	510
T. Ellendale	76	293
Todas las diferencias son significativas para $p \leq 0,05$.		

2.4 CONSIDERACIONES FINALES

De acuerdo con lo expuesto, la disponibilidad por carbohidratos junto con el contenido hormonal que, en gran parte, regula aquella, son factores decisivos del desarrollo del fruto. De su combinación depende, por tanto, la producción y sólo existen cuatro combinaciones posibles, dependiendo de las características de cada variedad. Bajo un punto de vista agronómico, el tratamiento en cada caso debe ajustarse a las condiciones, combinando las técnicas aquí descritas: aplicaciones de AG, para aumentar la capacidad sumidero del fruto, y rayado de ramas, para aumentar la disponibilidad por carbohidratos (Figura 13). Las primeras no pueden aplicarse con carácter general dada la insensibilidad de muchas variedades a las giberelinas. Las segundas pueden utilizarse siempre, con las precauciones pertinentes, sobre todo de no dañar el xilema. De su correcta aplicación depende la producción de muchas de las variedades más apreciadas comercialmente.

Figura 13. Combinaciones posibles en la disponibilidad de carbohidratos y el control hormonal, y técnicas propuestas para aumentar la cosecha y la calidad del fruto. CP: caída de pétalos. AG: Acido giberélico. Fuente: Agustí, 2000b.

Situación fisiológica	Práctica cultural y efecto
Disponibilidad de carbohidratos alta Capacidad sumidero alta	Rayado 25 días después de la CP ↳ Reducción de abscisión
Disponibilidad de carbohidratos alta Capacidad sumidero baja	AG a la CP: aumenta el nº de frutos cuajados ¿ Rayado 25 días después de la CP?

.../...

.../...

Situación fisiológica	Práctica cultural y efecto
Disponibilidad de carbohidratos baja Capacidad sumidero alta	Rayado antes de la CP ↳ Aumenta el nº de frutos cuajados Rayado 25 días después de la CP ↳ Reducción de la abscisión
Disponibilidad de carbohidratos baja Capacidad sumidero baja	Rayado antes de la CP + AG a la CP ↳ Aumento de la cosecha

3 • CRECIMIENTO DE LOS FRUTOS

3•1 FACTORES DETERMINANTES DEL CRECIMIENTO DEL FRUTO

El tamaño final alcanzado por el fruto está regulado por un conjunto de factores de índole e incidencia variables. La imposibilidad de su control global y su interrelación complican su estudio y sólo permite tener un conocimiento parcial de algunos de ellos, lo que unido a las diferencias varietales, edáficas, etc., obliga al estudio fragmentado de los mismos. A pesar de que ello es una simplificación de la realidad, presenta, sin embargo, una gran utilidad práctica.

3•1•1 Factores endógenos

De entre los factores internos de la planta que determinan el tamaño final del fruto, destacan los factores genéticos, la posición del fruto en el brote y la competencia entre órganos en desarrollo.

3•1•1•1 Factores genéticos

El tamaño del fruto en los cítricos puede variar entre márgenes bastante amplios para una misma variedad. Así, los árboles jóvenes producen frutos de mayor tamaño con corteza más gruesa y basta. En general, cuando el tamaño es grande y se separa mucho del característico, suelen aparecer caracteres indeseables (cortezas gruesas y bastas, poco zumo, etc.).

La manipulación de estos factores es difícil y, en general, cuando son modificados espontáneamente (mutaciones) dan lugar a características diferenciales que, de persistir en el tiempo y presentarse estables, definen una nueva variedad (Hodgson, 1967).

3•1•1•2 Posición del fruto

La comparación del desarrollo de los frutos situados en distintos tipos de inflorescencias revela importantes diferencias entre ellos. Así, se ha demostrado que la presencia de hojas en el brote estimula el desarrollo del fruto a través de una mayor velocidad de crecimiento, apareciendo las primeras diferencias en el momento del cuajado y aumentando con el tiempo hasta la recolección.

En el proceso de desarrollo del fruto, las hojas jóvenes adquieren un papel esencial como fuente de productos fotosintéticos, sobre todo carbohidratos. Sin embargo, durante un mes, aproximadamente, después de la antesis, actúan como órganos competidores de los frutos ya que mientras crecen actúan como sumidero y solo en su transición a hojas maduras alcanzan, paralelamente, su papel de fuente de carbohidratos (Moss *et al.*, 1972).

Así se entiende que las diferencias en el tamaño final del fruto se inicien en estados muy precoces del desarrollo del ovario. Estas diferencias son consecuencia del mayor contenido hormonal de los ovarios situados en brotes con hojas, tanto en giberelinas (Goldschmidt y Monselise, 1972) como en citoquininas (Saidha *et al.*, 1985), lo que podría aumentar la capacidad de estos frutos para atraer nutrientes del resto de la planta en etapas en las que las hojas en desarrollo no pueden cubrir sus exigencias (ver El-Otmani *et al.*, 1995).

3•1•1•3 Competencia entre órganos en desarrollo

Un factor de gran importancia en la determinación del tamaño final alcanzado por el fruto es la competencia entre órganos en desarrollo. Cuanto mayor es el número de éstos, sean flores o frutos, mayor es la competencia entre ellos, tanto por elementos minerales como por productos de fotosíntesis, lo que limita sus posibilidades de crecimiento y, por consiguiente, su tamaño final.

El tamaño individual del fruto está inversamente relacionado con el número de frutos (Goldschmidt y Monselise, 1977) y de flores (Agustí, 2000b) por árbol. En ambos casos, las dos variables se hallan relacionadas según una curva, de modo que sólo cuando el número de frutos es inferior a un determinado nivel, distinto según la variedad, condiciona su tamaño (Figura 14). Por encima del mismo, el fruto adquiere su mínimo tamaño, que no depende del número de órganos, sino de su carga genética, explicándose así la ausencia de correlación entre número y peso de los frutos en condiciones de elevada productividad. Por tanto, el tamaño que finalmente alcanzan los frutos no puede explicarse simplemente como consecuencia de una relación de competencia entre frutos en desarrollo. A pesar de ello, la reducción del número de frutos puede ser utilizada como técnica para aumentar su tamaño, aunque ello lleva implícita la reducción de cosecha. Esta técnica, conocida como aclareo de frutos, puede llevarse a cabo tanto manual como químicamente.

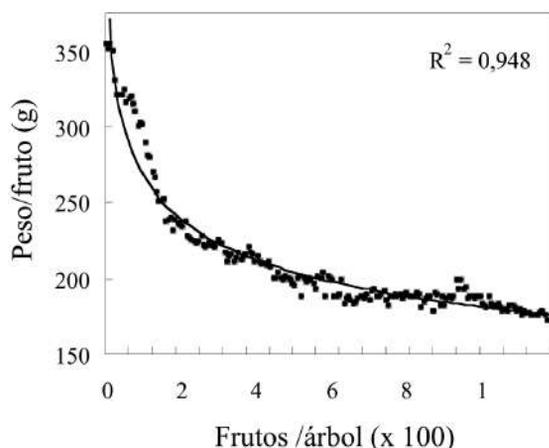


Figura 14.- Influencia del número de frutos por árbol sobre su tamaño medio en el naranjo dulce cv. 'Navelina'.

3•1•2 Factores exógenos

Además de los factores endógenos, otros factores, externos a la planta, presentan marcada influencia en la determinación del tamaño final del fruto. Entre ellos cabe señalar las condiciones climáticas y edáficas, así como las prácticas culturales, fundamentalmente riego y fertilización. Separarlos para su estudio resulta difícil y para una mejor comprensión han sido agrupados en dos grandes grupos: factores ambientales y prácticas culturales.

3•1•2•1 Factores ambientales

1.2.1.1. Temperatura

La acumulación de metabolitos en el fruto y, por tanto, su crecimiento, están directamente asociados a la temperatura (Sinclair, 1984). El fruto llega a ser altamente susceptible a las altas

temperaturas en algunas fases de su desarrollo inicial (período de división celular), resultando en una abscisión masiva de frutos y hasta en un efecto permanente que causa una reducción de su tasa de crecimiento a lo largo del ciclo de desarrollo.

El desarrollo de un fruto cítrico se caracteriza por cambios temporales muy notables en la velocidad de su crecimiento afectado, al menos en parte, por la temperatura. Así, en áreas subtropicales se alcanzan temperaturas máximas y mínimas significativamente por encima y por debajo, respectivamente, de las temperaturas correspondientes al área tropical, las cuales son más uniformes durante todo el año. No resulta extraño, por tanto, que bajo condiciones tropicales, el fruto crezca casi ininterrumpidamente durante todo su ciclo de desarrollo, resultando en un continuo aumento de su volumen, con la consiguiente reducción en el tiempo requerido para que alcance la maduración. En cambio, bajo condiciones subtropicales, el ritmo de crecimiento es más lento y depende de los cambios térmicos estacionales (Reuther, 1973).

Durante el período de maduración, la ausencia de crecimiento del fruto se halla asociada a las bajas temperaturas. Temperaturas por debajo de 3°C ejercen un efecto significativamente depresivo en el crecimiento del fruto.

Como consecuencia de las altas temperaturas, el tiempo transcurrido entre plena floración y maduración puede verse sensiblemente reducido. Es decir, condiciones de elevada luminosidad y temperaturas medias más altas durante el final de la primavera y el verano, producen condiciones favorables para aumentar la actividad fotosintética y, por tanto, para que se de una mayor acumulación de carbohidratos solubles en el fruto (Sinclair, 1984).

Las elevadas temperaturas durante la primavera y el verano y el porcentaje de ácidos libres acumulado en el zumo siguen una relación inversa, de manera que valores elevados de aquellas son, aparentemente, acumulativos en su contribución a un bajo contenido en ácidos libres del zumo. Normalmente, por tanto, en condiciones tropicales se requiere menos tiempo que en condiciones subtropicales para que el fruto alcance un mismo índice de madurez.

3•1•2•1•2 Pluviometría

En los agrios, las estaciones húmedas y frescas se corresponden con períodos de semireposo de los árboles. A pesar de ello, las lluvias otoñales de los climas templados mejoran el tamaño final de los frutos, así como su contenido en zumo, y reducen su concentración de azúcares y ácidos libres.

Las estaciones secas y calurosas se corresponden, por el contrario, con períodos de crecimiento y desarrollo activo de los órganos y, por lo tanto, del fruto. Déficits hídricos durante este período, pueden provocar retrasos irreversibles en la determinación del tamaño final de éste (Erickson y Richards, 1955).

3•1•2•1•3 Suelo

La textura del suelo es un factor importante en la determinación de la calidad de los frutos cítricos. Así, en términos generales, puede decirse que en parcelas de suelo arcilloso el tamaño del fruto es inferior al de parcelas de suelo franco, mientras que en las de suelo arenoso el tamaño del fruto es superior al de parcelas de suelo franco (González-Sicilia, 1968).

Por otra parte, en los suelos arcillosos, la pulpa es menos jugosa, pero contiene un zumo más denso a causa de un mayor contenido en sólidos solubles. Además, contiene una mayor

cantidad de ácidos libres, y como su incremento es mayor que el de los azúcares, el índice de madurez disminuye.

En los suelos arenosos, por el contrario, la pulpa es más jugosa, y su zumo menos denso a causa de un menor contenido en sólidos solubles. Además, contiene una menor cantidad de ácidos libres, y como su descenso es mayor que el de los azúcares, el índice de madurez aumenta, exaltándose de este modo la precocidad respecto de los frutos procedentes de suelos francos o arcillosos. Los frutos son menos resistentes al transporte, como consecuencia del escaso espesor de su corteza.

3•1•2•2 Prácticas culturales

3•1•2•2•1 Riego

El riego constituye una práctica cultural de efectos notables en la determinación del tamaño final del fruto.

Puffer (1949) trabajando con naranjas 'Valencia' concluyó que el suministro de agua en cantidad insuficiente provoca la reducción del tamaño de los frutos. Por su parte, Hilgeman (1951) trabajando en la misma variedad, determinó el efecto que produce el riego sobre la calidad y tamaño de los frutos, concluyendo:

- a) los riegos frecuentes tienden a incrementar el tamaño final del fruto.
- b) los riegos abundantes de agosto a octubre aumentan significativamente el porcentaje de zumo de los frutos, así como su contenido en corteza.
- c) humedades elevadas del suelo durante el mismo periodo afectan, desfavorablemente, el contenido en sólidos solubles del zumo.

Según Smoyer (1946), los períodos de sequía, aunque sean cortos, tienden a reducir el tamaño del fruto, y cuando se presentan durante el período de maduración aceleran la coloración del fruto, pero retrasan la maduración interna.

3•1•2•2•2 Fertilización

Las deficiencias en elementos minerales alteran el desarrollo de las plantas en un sentido amplio y, por tanto, el crecimiento del fruto puede verse modificado. Su efecto sobre el tamaño y la calidad del fruto es muy variable, y depende marcadamente del elemento mineral en cuestión, así como de la época en que se manifiesta (Del Rivero, 1968; Embleton *et al.*, 1973; Primo-Millo y Legaz, 1983a; 1983b; Legaz y Primo-Millo, 1988).

La corrección de carencias en estos elementos minerales, cuando existen, es requisito previo para la obtención de un fruto de calidad. Sin embargo, y aunque en general la corrección de situaciones carenciales se traduce siempre en un estímulo del crecimiento del fruto y una mejora de la calidad, ello no debe considerarse como un método para aumentar su tamaño. Es más, una vez alcanzada la concentración foliar adecuada, la adición de un nutriente al medio no tiene ningún efecto favorable y puede llegar a tenerlos desfavorables, caso del nitrógeno y del fósforo cuyo exceso provoca reducción del tamaño y pérdida de calidad del fruto (Chapman y Rayner, 1951; Jones *et al.*, 1957).

El potasio, sin embargo, se presenta como una excepción ya que concentraciones foliares superiores a las consideradas óptimas mejoran el tamaño del fruto sin afectar negativamente a su cali-

dad (Guardiola, 1980). Aplicaciones de nitrato potásico, a concentraciones del 2%, o superiores, durante el verano, se han mostrado eficaces, pero tratamientos en plena floración, si bien estimulan el desarrollo inicial del fruto, dan lugar a efectos transitorios, por lo que no alcanzan a alterar positivamente los parámetros de la cosecha final (García-Marí *et al.*, 1980).

Es de destacar, también, el papel del magnesio. En condiciones de deficiencia en este elemento, el almidón tiende a acumularse ya que su hidrólisis, la síntesis de sacarosa y la carga de ésta en el floema requieren energía y ésta se halla ligada a la actividad ATPásica, que depende del magnesio. En estas condiciones no hay partición de fotoasimilados, éstos no llegan al fruto y su tamaño se ve reducido.

Finalmente, el fraccionamiento de la fertilización mejora el desarrollo y el tamaño del fruto frente a aportaciones puntuales (Guardiola y Agustí, 1984).

3•1•2•2•3• Patrón

Los estudios desarrollados sobre el comportamiento de los patrones revelan que tanto la producción como la calidad del fruto de la variedad injertada, se hallan influidos por él (Castle, 1987; Forner, 1985). En general, los citranges (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck x *P. trifoliata* (L.) Raf.) dan lugar a elevadas cosechas de excelente calidad, particularmente el c. Carrizo, y exaltan la precocidad. El mandarino Cleopatra (*Citrus reshni* Hort ex Tanaka) y el naranjo dulce (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) inducen buenas producciones y de buena calidad, aunque con tendencia a producir frutos de pequeño tamaño. Los Forner-Alcaide F&A 5 y F&A 13 (*C. reshni* x *P. trifoliata*) y F&A517 (*C. nobilis* Nour. x *P. trifoliata*) inducen la producción de frutos de tamaño similar a los obtenidos con los citranges, pero el F&A 418 [(*C. sinensis* x *P. trifoliata*) x *C. deliciosa*] da lugar a frutos de gran tamaño (Forner *et al.*, 1996; 2000).

Otros patrones, como el Citrumelo (*Citrus paradisi* Maca. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) y el *Citrus volkameriana* Pasq., dan lugar también a buenas producciones, pero de frutos de inferior calidad a la obtenida con los patrones anteriormente citados.

3•2 ESTÍMULO DEL DESARROLLO DEL FRUTO

3•2•1 Reducción de la competencia

3•2•1•1 Aclareo de frutos

La reducción del número de frutos, o aclareo, tanto manual como químico, es una de las técnicas más empleadas en todo el mundo para aumentar su tamaño final en diversas especies.

El aclareo manual ha revelado que su mayor eficacia se logra cuando se efectúa durante la caída fisiológica de frutos (Zaragoza *et al.*, 1992). En esta época, sin embargo, este tipo de aclareo es inviable ya que el elevado número de frutitos en desarrollo impide utilizarlo como técnica agronómica rentable. Más apropiado parece efectuarlo una vez superada aquella, es decir, en plena fase II del desarrollo, pero en este caso el aclareo apenas altera al desarrollo de los que permanecen en el árbol, excepto cuando aquel es muy intenso y afecta, al menos, a los 2/3 de los presentes en el árbol (Figura 15). Pero en estas condiciones, el aclareo induce una notable disminución de la producción, ya que la relación existente entre ésta y el número de frutos es lineal y muy estrecha.

Por tanto, el aclareo manual de frutos como técnica para aumentar su tamaño final presenta importantes limitaciones. Así, aunque debe realizarse tras finalizar la caída de junio, en la práctica se realiza en estados bien avanzados del desarrollo del fruto para que no resulte económicamente prohibitivo, lo que traslada su ejecución a épocas poco sensibles; se ha de eliminar un número muy elevado de frutos, lo que representa un costo de cultivo adicional importante y, además, reduce la cosecha, etc...

Sin embargo, hay otros aspectos que deben tenerse en cuenta y que explican, en parte, su uso:

- a) El aclareo de frutos, tanto si es químico como si es manual, no es indiscriminado sino selectivo, afectando a los frutos más pequeños de la planta y, en el caso de ser manual, también a aquellos frutos que presentan mermas de su calidad por otras causas distintas al tamaño.
- b) La eliminación de los frutos más pequeños aumenta el peso medio de los frutos que persisten en el árbol, sin que ello signifique que hayan aumentado de tamaño. Se consigue así eliminar los calibres pequeños que no tienen valor comercial y presentar una cosecha de, aparentemente, mejor calidad: el destrío es eliminado precozmente en el campo.
- c) En ocasiones, su uso viene determinado por otros objetivos distintos a los del tamaño final del fruto. Así, se ha utilizado el aclareo para reducir la vejería (Jones *et al.*, 1977; Monselise *et al.*, 1981) y el decaimiento y/o colapso del árbol, que aparece en algunas variedades alternantes de mandarina ('Murcott', 'Dancy', etc.) en los años de elevada cosecha (Monselise y Goldschmidt, 1982; Chapman, 1984).

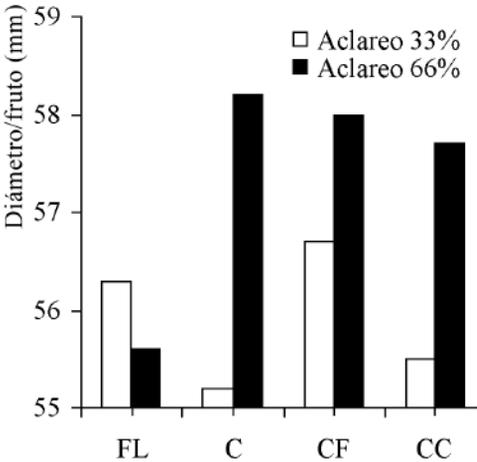


Figura 15. Efecto de la época e intensidad de aclareo en el tamaño final del fruto de la mandarina 'Satsuma'. Control: Diámetro 55,4 mm. FL: Floración; C: Cuajado; CF: Caída fisiológica; CC: Cambio de color. Adaptado de Zaragoza *et al.* 1992

El aclareo químico de frutos también se ha utilizado para aumentar su tamaño final (El-Otmani *et al.* 2000). El ácido naftalenacético (ANA), el ethephon y el etilclozate (Figaron) aplicados en fases precoces del desarrollo del fruto (Fase I), son capaces de provocar la abscisión de un número elevado de frutos, con el consiguiente incremento de su tamaño y la reducción de cosecha. También en este caso, para que el tratamiento sea eficaz ha de afectar, al menos, a los 2/3 de los frutos del árbol. Sin embargo, cuando se aplican una vez superada la caída fisiológica de frutos (Fase II), su eficacia es muy limitada (Agustí *et al.*, 1995b).

El ANA fue registrado como producto químico agrícola para el aclareo de la mandarina 'Satsuma' en 1969 en Japón. En este país el período de aplicación fue fijado a los 20-30 días después de la antesis para una concentración de 200-300 mg/l (Iwahori, 1978; Hirose, 1981). Su difusión fue muy favorable (Hirose, 1981), ya que: 1) era eficaz como aclarante de la mandarina 'Satsuma', que es el principal cultivar en Japón, 2) no producía ningún daño químico, aunque aplicado después de completada la caída de junio pueda causar defoliaciones notables (Kamuro e Hirai, 1981), y 3) provocaba un ligero aumento del tamaño del fruto (Hirose *et al.*, 1978). Pero el ANA dejó de utilizarse en Japón cuando fue eliminado del registro agrícola.

En EEUU, concentraciones de ANA entre 100 y 800 mg/l durante la caída fisiológica, fueron eficaces en el aclareo de frutos y mejoraron su tamaño final en los mandarinos 'Dancy' (Wheaton y Stewart, 1973; Wheaton, 1981) y 'Murcott' (Wheaton, 1981). En general, el aclareo aumentó con el incremento de la concentración aplicada. En este país el ANA tampoco está registrado para estos usos.

En Australia, concentraciones entre 300 y 500 mg/l de ANA aplicadas también durante la caída fisiológica aumentaron el tamaño final del fruto del naranjo dulce 'Valencia' (Gallasch, 1988).

En España, Ortolá *et al.* (1991) han demostrado un efecto directo de esta sustancia sobre el desarrollo del fruto de la mandarina 'Satsuma', independiente de su efecto aclarante.

El ethephon también se ha utilizado con éxito para provocar el aclareo de frutos. En Australia, concentraciones entre 200 y 300 mg/l aplicadas a la mandarina 'Imperial', durante la caída fisiológica de frutos, redujeron entre un 25% y un 45% el número de los cosechados. Para la concentración de 300 mg/l el tamaño medio fue similar al de los frutos sin tratar y menor que para 200 y 250 mg/l. Además, dio lugar a una pequeña proporción de frutos necróticos, como consecuencia de la alta concentración de etileno desprendido por la aplicación de ethephon. Los frutos más grandes se obtuvieron con 250 mg l⁻¹ (El-Zeftawi, 1976). Concentraciones superiores a las indicadas provocaron aclareos de frutos mayores pero, sin embargo, redujeron el tamaño final de los cosechados (Gallasch, 1978). En todos los casos, la cosecha se redujo respecto a los controles sin tratar.

Gallasch (1988) trabajando con 'Ellendalle' y 'Dancy', dos cultivares alternantes de mandarina, observó que, en los años "on", el número de frutos por árbol disminuía con la concentración de ethephon aplicada, y el peso medio del fruto aumentaba para todas las concentraciones respecto del control sin tratar. El máximo tamaño fue registrado para una concentración de ethephon de 200 mg/l, para la mandarina 'Ellendalle', y de 300 mg/l para la mandarina 'Dancy'.

En EEUU, concentraciones entre 150 y 250 mg/l, aplicadas durante la caída fisiológica de los frutos, fueron eficaces en la mandarina 'Dancy', mostrando buenos aclareos. La mandarina 'Murcott' se mostró muy sensible, provocándose en ella aclareos excesivos (Wheaton, 1981).

En Japón, el ethephon aplicado a una concentración de 100 mg/l, 30-40 días después de la antesis, produjo junto con el aclareo de frutos, la abscisión de un 15-20% de hojas (Iwahori, 1978; Kamuro e Hirai, 1981).

En Japón, desde que el ANA se retiró del registro agrícola, se utiliza con éxito el etilclozate o éster etílico del ácido 5-cloroindazol-8-acético (IZAA; Figaron). La influencia de esta sustancia sobre el desarrollo del fruto es muy pobre en comparación con el ANA y, de hecho, no presenta un efecto mejor que el aclareo manual (Noma, 1981).

El período de aplicación es de 40-50 días después de la antesis, y la concentración recomendada de 100-200 mg/l (Hirose *et al.*, 1978; Iwahori, 1978; Hirose, 1981). Por lo tanto, se puede aplicar

después de que haya finalizado la caída fisiológica de los frutos, y cuando la cantidad de fruto en el árbol ya puede ser evaluada (Iwahori, 1978). Se ha demostrado que un tratamiento más precoz, a los 30 días de la antesis, no consigue aumentar el peso individual del fruto respecto al control no tratado (Hirose *et al.*, 1978).

El tamaño del fruto en el momento de la aplicación es muy importante. Un fruto más pequeño de 25 mm de diámetro tiende a caer, mientras que frutos más grandes raramente lo hacen (Iwahori, 1978; Kamuro e Hirai, 1981). Tratamientos más tardíos, por tanto, son menos eficaces como aclarantes (Hirose *et al.*, 1978).

Las condiciones climáticas también se han mostrado determinantes de su respuesta. Temperaturas tras la aplicación entre 20°C y 25°C provocan aclareos estables; y temperaturas más elevadas producen un mayor aclareo (Hirose *et al.*, 1978; Hirose, 1981).

3•2•1•2 Mecanismo de acción de las sustancias aclarantes

Durante el proceso de diferenciación de los haces vasculares en el disco del fruto joven, éstos se forman antes en el lado del fruto. Cuando se extienden hacia el pedúnculo, y en ese extremo, el haz vascular principal se diferencia gradualmente desde el procambium y conecta, eventualmente, con el haz vascular extendido desde el pedúnculo, en la zona del nudo del disco. Cuando el haz vascular del lado del fruto y el del lado del pedúnculo llegan a conectar, el fruto puede continuar creciendo.

En el fruto que cae, la capa de abscisión se forma desde el procambium en el nudo, aproximadamente en el centro del disco, y antes de que los haces vasculares del lado del fruto y del lado del pedúnculo lleguen a conectar.

En los frutos jóvenes tratados con ANA se forman, en las células de la zona procambial, grandes espacios aéreos entre la pared celular y la membrana protoplasmática. La membrana entonces se deteriora, desaparece y el citoplasma se dispersa. Durante este proceso la pared celular se hace extremadamente delgada y en el período de formación de la capa de abscisión se produce la autólisis de las células degeneradas de la zona procambial. Si la degeneración celular prosigue se produce etileno, el cual activa la acción celulásica y retarda o inhibe la síntesis de auxinas en el fruto.

Por una parte, la actividad celulásica causa la rotura y disolución de la pared de las células de la zona procambial, y por otra parte, la inhibición o retraso de la síntesis de auxinas retarda la diferenciación y formación de los haces vasculares. Todo ello favorece la formación de la capa de abscisión, impidiendo la conexión de los haces vasculares del lado del fruto y del lado del pedúnculo, provocando la caída del fruto (Iwahori, 1978; Hirose, 1981).

En la época recomendada para la aplicación de etilclozate (40-50 días después de la antesis), los haces vasculares del fruto y del pedúnculo ya han conectado. Aunque en condiciones naturales, a partir de este momento el fruto raramente cae, el tratamiento con etilclozate provoca nuevamente la formación de la capa de abscisión (Hirose, 1981).

El efecto aclarante del ANA, ethephon y etilclozate, ha sido relacionado con su acción sobre la síntesis de etileno en el fruto tratado. El pico en la concentración de etileno producido por el tratamiento con etilclozate es menos pronunciado que el producido por el ANA, y éste menor, a su vez, que el producido por el ethephon. Además este máximo de etileno se produce para el etilclozate, ANA y ethephon, respectivamente, a los 3-4, 2 y 1 días de efectuada su aplicación (Kamuro e Hirai, 1981). Pero el etileno generado desaparece más rápidamente en el caso del ethephon y del ANA, que

en el del etilclozate (Kamuro e Hirai, 1981). Es decir, en este último caso, el período de persistencia del etileno en la planta es más prolongado que en los demás (Hirose, 1981).

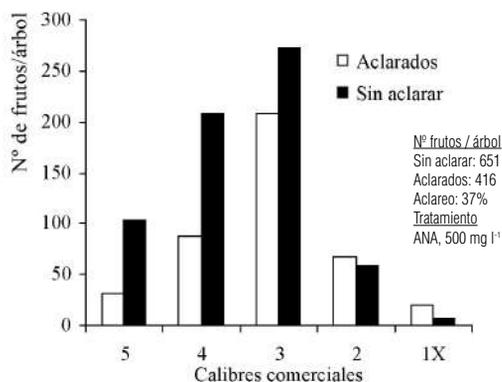


Figura 16. Distribución poblacional de los diámetros de frutos procedentes de árboles de mandarina 'Satsuma' aclarados y sin aclarar. Fuente: Agustí et al, 1995a.

Finalmente, el aclareo químico de frutos no es un proceso al azar, sino que incide selectivamente sobre los frutitos más pequeños (Kamuro e Hirai, 1981), que originan frutos de menor tamaño, por lo que su eliminación incrementa el peso medio del fruto cosechado aún en ausencia de un efecto sobre el tamaño del fruto remanente. Es decir, el aumento en el tamaño medio del fruto se obtiene por eliminación de los menores, sin que necesariamente se produzca un estímulo en el desarrollo de los que persisten en el árbol (Figura 16) (Agustí y Almela, 1984). Al igual que para el caso del aclareo manual, para que la respuesta sea eficaz es necesario eliminar un elevado número de frutos, lo que invariablemente reduce la cosecha (Foto 13).

El número de flores producidas por la planta también tiene una gran influencia en la determinación del tamaño final alcanzado por el fruto, habiéndose encontrado, generalmente, relaciones más estrechas entre ambos parámetros que entre el número de frutos y su tamaño. De hecho, en el momento de la anthesis, los ovarios procedentes de plantas de alto nivel de floración ya son más pequeños que los procedentes de plantas con menor nivel de floración y, además, presentan menor velocidad de crecimiento.



Foto 13. El aclareo químico de frutos puede utilizarse para aumentar su tamaño final pero repercute en la cuantía de la cosecha. Fotografía de un árbol de mandarina Clementina 'Fina' tratado con Fenotiol (30 mg l⁻¹) cuando el fruto tenía un diámetro de 9.3 ± 0.1 mm.

3.2.1.3 Reducción de la floración

En la mayor parte de nuestras variedades, el número de flores producidas no es excesivamente alto y su relación con la cosecha es prácticamente inexistente. Como para estos mismos niveles sí hay relación con el tamaño del fruto, la reducción de la floración ofrece una vía indirecta para aumentar el tamaño del fruto.

En efecto, en estos casos, una reducción de la floración no reduce la cosecha, puesto que el número de flores excede el número de frutos cosechados, pero aumenta el tamaño medio de estos últimos (Figura 17). Cuando ello se compara con la relación entre el número de frutos por árbol y el peso medio de éstos, se concluye que la reducción del número de frutos por árbol también consigue aumentarlo, pero a costa de una marcada reducción de la cosecha (Figura 17), lo que no ocurre con la inhibición de parte de las flores (Agustí, 2000b). Es más, la relación del peso final del fruto puede llegar a ser más estrecha con el número de flores por árbol que con el número de frutos, como ocurre en nuestros experimentos con la Clementina 'Fina' (Figura 17).

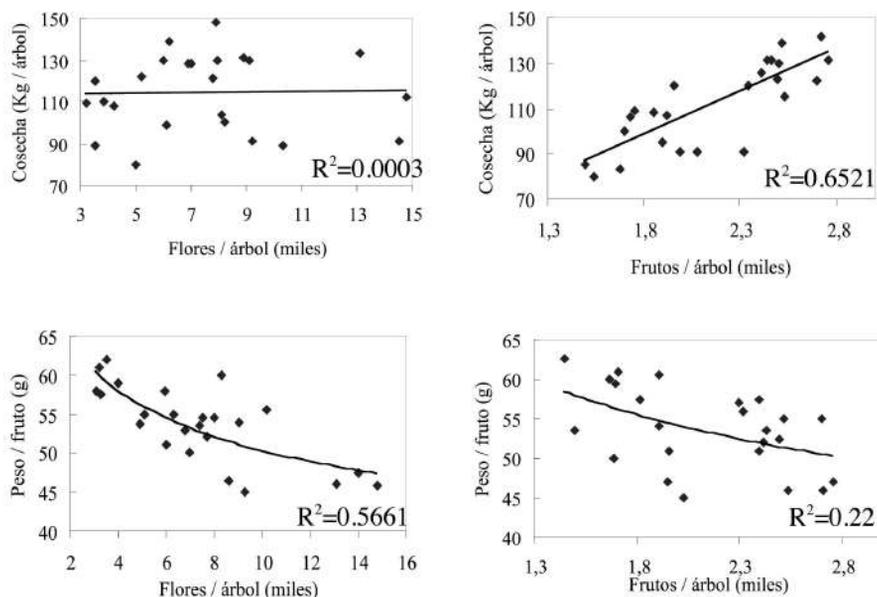


Figura 17.- Relación del número de flores y de frutos con su tamaño y la cosecha, en árboles de mandarina Clementino 'Fina'. Fuente: Agustí, 2000b.

Esta mayor influencia del número de flores indica que la determinación del tamaño final del fruto queda establecida durante las fases iniciales de su desarrollo y que una vez completada la caída fisiológica, la competencia entre frutos tiene una influencia muy reducida en su crecimiento. La ventaja a favor del control de la floración resulta, por tanto, evidente.

3•2•2 Modificación del reparto nutricional

Un mejor reparto de carbohidratos por la planta puede repercutir positivamente sobre el fruto, estimulando su crecimiento. Los frutos son lo sumideros más potentes de un árbol frutal, de modo que dicho reparto viene condicionado por su número y de ahí la aparición de los fenómenos de competencia por carbohidratos. Pero esta competencia puede paliarse, al menos temporalmente, aislando a la copa de los órganos de reserva más eficaces, las raíces, capaces de reclamarlos para almacenarlos y/o reduciendo la velocidad de su transporte por la planta, que mejoraría su disponibilidad por el fruto. Todo ello puede lograrse con el rayado de ramas (ver apt. 2.3, Foto 12).

La eficacia de esta técnica depende de la época de realización, coincidiendo la más adecuada con el final de la caída fisiológica de frutos (Tabla 12). Un retraso en su realización disminuye su eficacia, aunque un cierto efecto se detecta hasta principios de septiembre. Del mismo modo, su realización antes del final de la caída fisiológica supone una pérdida de efecto, tanto mayor cuanto mayor es la anticipación. Hay que tener en cuenta que la ejecución del rayado desde la antesis hasta el final de la caída fisiológica, provoca un estímulo del crecimiento inicial del fruto, dando lugar a un retraso en la abscisión de frutitos en desarrollo y/o a un aumento del número de los que persisten en la planta (ver apt. 2. 3), y ambos efectos repercuten negativamente sobre el tamaño final de los frutos recolectados.

Tabla 12. Influencia de la época de rayado de ramas sobre el tamaño final del fruto de la mandarina 'Satsuma'

N. Fecha de rayado	Ø/fruto (mm) ± ES
---	51,4 ± 0,8
7 julio	55,0 ± 0,9
28 julio	54,0 ± 0,7
16 septiembre	53,4 ± 0,8

La respuesta al rayado es rápida, detectándose diferencias en el diámetro del fruto a los 20 días de la aplicación (Agustí *et al.*, 1989). El efecto de estímulo se produce sobre todos los frutos del árbol que aumentan de tamaño, como se observa al comparar la distribución poblacional de frutos de árboles rayados y sin rayar (Figura 18). La ausencia de aclareo y el desplazamiento de las curvas de la población hacia calibres mayores, indica un efecto directo sobre el tamaño del fruto.

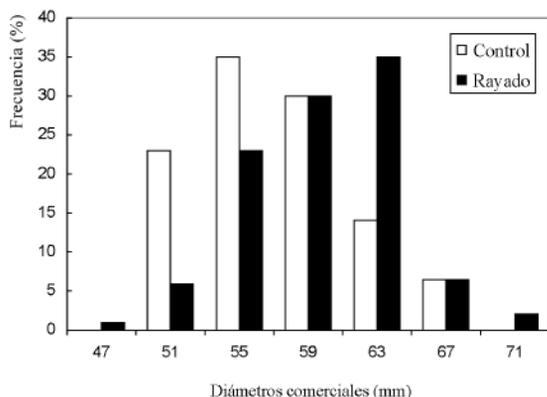


Figura 18. Distribución de los diámetros de frutos de mandarina 'Fortune' procedentes de árboles sin rayar y rayados al final de la caída fisiológica de frutos. Fuente: Agustí *et al.*, 1990.

Este efecto del rayado es general en todas las especies y variedades estudiadas, tanto de naranjo como de mandarina (Cohen, 1984a; 1984b; Agustí *et al.*, 1995a), obteniéndose incrementos en el diámetro medio de los frutos rayados entre el 5% y el 8% con respecto a los controles (Tabla 13).

Tabla 13. Efecto del rayado de ramas al final de la caída fisiológica de frutos sobre el diámetro final del fruto de diversas variedades de cítricos.

Variedad	Controles	Rayados
M. Satsuma	51,4 ± 0,8	55,0 ± 0,9
M. Nova	58,3 ± 1,1	62,6 ± 1,6
M. Fortune	57,4 ± 1,0	59,8 ± 0,5
N. Navelate	64,1 ± 0,3	66,8 ± 0,6

Las características del fruto tratado no se modifican. Las diferencias encontradas en el espesor de la corteza y los contenidos absolutos de corteza y zumo por fruto, son consecuencia de su mayor tamaño (Tabla 14). Pero cuando estos valores se expresan porcentualmente al peso del fruto, no aparecen diferencias entre ambos tipos de frutos. La concentración de sólidos solubles en el zumo y su acidez libre tampoco se ven afectadas por el rayado.

Tabla 14. Influencia del rayado de ramas al final de la caída fisiológica sobre las características del fruto maduro de la mandarina 'Fortune'. Letras distintas en una misma fila indica significación estadística $p \leq 0.05$. Fuente: Agustí *et al.*, 1990.

Parámetro	Controles	Rayados
Peso / fruto (g)	90.60 a	108.20 b
Relación Ø/h	1.28	1.31
CORTEZA		
Peso / fruto (g)	22.40 a	28.40 b
% (p / p)	27.90	26.20
Espesor (mm)	2.83 a	3.04 b
Agua (%)	77.20	76.20
ZUMO		
Vol / fruto (cc)	49.80 a	59.50 b
% (p / p)	57.00	56.50
SST (°Brix)	10.60	10.40
Acidez (%)	1.89	1.77
E /A	5.61	5.88

Efectos similares a los descritos han sido obtenidos en el pomelo y en el naranjo dulce 'Shamouti' (Hochberg *et al.*, 1977; Fishler *et al.*, 1983; Cohen, 1981, 1984a, 1984b), utilizando una técnica de rayado mucho más agresiva, consistente en la separación de un anillo completo de corteza de 2-3 mm de anchura y realizado en la base del tronco. Dada la similitud de resultados encontra-

dos entre esta técnica y la anteriormente descrita, no parece que la anchura del rayado sea determinante de la respuesta, como se ha demostrado en otras especies (Agustí et al., 1998).

El rayado de ramas provoca la interrupción temporal del transporte floemático hacia las raíces y la acumulación de sustancias en la copa del árbol. Los cambios provocados en el balance endógeno de carbohidratos (Wallerstein et al., 1974; 1978; Fishler et al., 1983) y elementos minerales (Kurtzman, 1966), han sido considerados como la acción primaria del rayado sobre el desarrollo del fruto (Stolz y Hess, 1966). Pero el efecto logrado no puede explicarse en términos de alteraciones en el transporte y disponibilidad de nutrientes, exclusivamente, y cambios de este tipo en giberelinas (Wallerstein et al., 1973), auxinas (Dann et al., 1985) y citokininas (Skene, 1972) han sido señalados por acción del rayado. La concentración de todas estas sustancias aumenta en la zona del árbol situada por encima del rayado, aumentando de este modo la importancia de las hojas como fuente de estos metabolitos, favoreciendo así el desarrollo del fruto. La coincidencia en la época de mayor sensibilidad del fruto al rayado y a la aplicación de auxinas de síntesis (como se verá más adelante), sugiere que la acción del rayado sobre el tamaño final del fruto es a través de un efecto hormonal (Agustí y Almela, 1991).

En ocasiones se ha señalado la aparición, en las hojas, de síntomas de deficiencias minerales y amarillamiento de los nervios y partes próximas, como consecuencia del rayado. Este último síntoma se ha atribuido a una excesiva acumulación de carbohidratos, durante el verano, en las ramas rayadas (Cohen, 1981), lo que puede provocar una abscisión de hojas que, en todo caso, no es muy importante.

3•2•3 Aumento de la capacidad sumidero de los frutos

La aplicación de sustancias hormonales es capaz de aumentar la capacidad sumidero de los frutos, lo que se ha utilizado para alterar su crecimiento y aumentar su tamaño final (El-Otmani et al. 2000).

3•2•3•1 Tratamientos



Foto 14. La aplicación adecuada de auxinas de síntesis puede hacer compatible un aclareo mínimo de frutos con un incremento notable de su tamaño individual. Fotografía de un árbol de mandarina 'Fortune', tratado con 3,5,6-TPA (15 mg l⁻¹) cuando el fruto tenía un diámetro de 20.1 ± 0.3 mm.

A pesar de la relación existente entre el número de frutos y su tamaño, en la práctica resulta factible aumentar este último sin aclareo (Foto 14). La aplicación de auxinas de síntesis permite lograr este objetivo. En efecto, experimentos con el éster isopropílico del 3,5,6-TPA (ácido 3,5,6-tricloro-2-piridiloxiacético) demuestran efectos similares sobre el tamaño final del fruto de la mandarina

Clementina 'Fina' cuando se aplica en plena caída fisiológica de frutos o una vez finalizada ésta, pero con aclareo de frutos en el primer caso y sin aclareo en el segundo (Figura 19) (Agustí et al., 1995b). La sensibilidad del proceso a las auxinas exógenas dependiendo del momento de la aplicación resulta, por tanto, evidente.

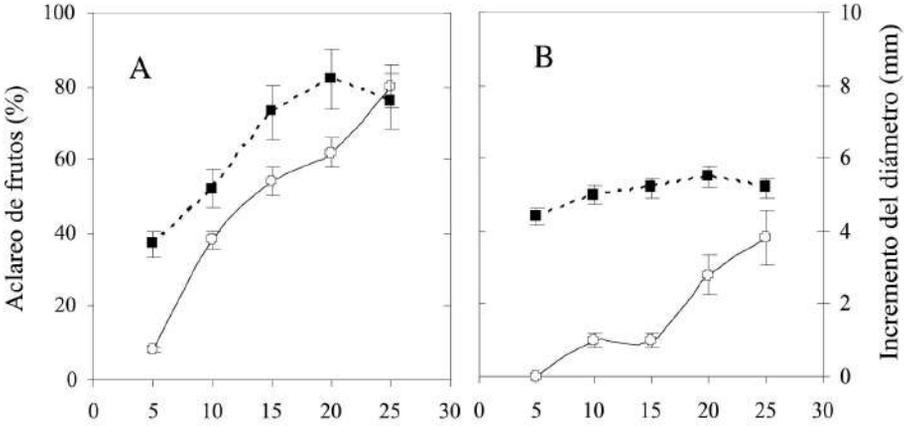


Figura 19 Influencia de la concentración y la fecha de aplicación del éster isopropílico del 3,5,6-TPA en el aclareo de frutos y el incremento del diámetro (relativo al control) de la mandarina Clementina 'Fina'. Los tratamientos se realizaron nueve semanas después de la antesis con un fruto de diámetro medio de 10.9 ± 0.2 mm (A) o doce semanas después de la antesis con frutos de diámetro medio de 17.3 ± 0.2 mm (B). Valores expresados en relación al diámetro del control: 47.9 ± 0.3 mm. (---) Incremento del diámetro; (—) Aclareo de frutos (%). Fuente: Agustí *et al.*, 1995b.

En todas ellas, por tanto, la época de aplicación constituye el factor clave en la determinación de la respuesta, condicionando incluso el efecto de la concentración. Como norma general deben efectuarse las aplicaciones durante los últimos días de la caída de junio, lo que equivale a decir para un diámetro del fruto entre 15 y 20 mm en las mandarinas 'Clementina' y 'Fortune' (Foto 15), entre 20 y 25 mm en las mandarinas 'Satsuma' y 'Nova', y entre 25 y 30 mm en las naranjas (Agustí et al., 1995a). Este estado de desarrollo coincide con el cese de la división celular, cuando las vesículas llenan por completo los lóculos y sus células inician el crecimiento y la acumulación de zumo (Bain, 1958). Por tanto, la aplicación debe realizarse en un estado fisiológico del fruto muy concreto, idéntico para todas las especies y variedades. El hecho de que los diámetros adecuados para tratar el fruto sean distintos sólo indica que la manifestación externa de dicho estado varía con ellas.

Las características de la parcela, la formulación química de la auxina, la cantidad de líquido aplicada por árbol y las condiciones climáticas son, asimismo, factores determinantes de la respuesta. El tamaño del fruto puede presentar diferencias importantes entre parcelas, como consecuencia de las condiciones climáticas y edáficas. Este efecto se traduce también en la respuesta a la aplicación de las auxinas, y las parcelas que producen frutos de mayor tamaño responden mejor a su aplicación que las que producen frutos más pequeños. Este aspecto debe tenerse en cuenta, sobre todo, en aquellas parcelas en las que el tamaño del fruto puede estar limitado de modo natural (Agustí y Almela, 1991; Agustí et al., 1991b).



Foto 15. Estado adecuado del fruto para su tratamiento con auxinas de síntesis. Mandarina Clementina 'Fina'. Fuente: Agustí *et al.*, 1991b.

La formulación química de las auxinas de síntesis puede influir decisivamente en la respuesta. El 2,4,5-T constituye un ejemplo característico. Así, es más eficaz para estimular el crecimiento del fruto aplicado bajo la forma de éster isobutílico que como ácido libre o éster butoxietanol (Agustí y Almela, 1984). También los ésteres etílico, en el caso del ANA, butilglicólico, en el del 2,4-DP (Vanniere y Arcuset, 1989; Agustí *et al.*, 1991b), e isopropílico, en el del 3,5,6-TPA (Aznar *et al.*, 1995a) son más eficaces que sus respectivas sales aminas o ácidos libres.

La cantidad de líquido aplicada a la planta también es un factor decisivo en la respuesta (Guardiola, 1980). No se deben sobrepasar, para las concentraciones indicadas en cada uno, los 2500-3000 litros/ha (200-250 litros/hg) en el rociado de árboles adultos. En caso contrario, se aplican cantidades de auxina superiores a las recomendadas (Agustí y Almela, 1991; Agustí *et al.*, 1991b). Ello puede incidir negativamente sobre la brotación de verano que, normalmente, tiene lugar en las mismas fechas en que se recomienda la aplicación de estas sustancias (Foto 16). Concentraciones superiores a las indicadas como óptimas y condiciones climáticas adversas en el momento del tratamiento pueden provocar efectos indeseables similares a los derivados de una aplicación deficiente.



Foto 16. Ligeras deformaciones en las hojas pueden aparecer tras la aplicación de auxinas de síntesis para aumentar el tamaño del fruto, ya que la época de éstas coincide con la brotación de verano. La brotación siguiente, finales de verano, no se ve afectada.

La adición de abonos foliares es compatible con los tratamientos, aunque se recomienda no aplicar sustancias ricas en nitrógeno que pueden reducir la calidad final del fruto. La compatibilidad de las auxinas de síntesis con sustancias plaguicidas es variable y depende del tipo de éstas, pero el volumen de caldo que precisa el control de las plagas hace inviable su aplicación conjunta en la mayor parte de los casos (Agustí et al., 1991b).

La respuesta a este tipo de sustancias es creciente con la concentración y saturante para un nivel de ésta variable con la auxina. En la figura 20, se representa la acción del éster butilglicólico del ácido 2,4-diclorofenoxipropiónico (2,4-DP) sobre el tamaño final del fruto de la mandarina Satsuma (Agustí et al., 1994a).

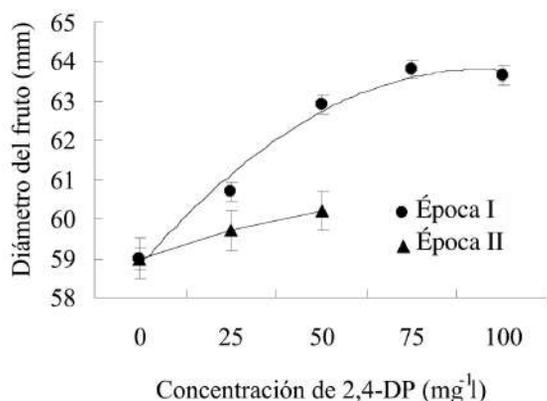


Figura 20. Efecto de la aplicación de 2,4-DP sobre el tamaño final del fruto de la mandarina 'Satsuma. Diámetro del fruto en el momento del tratamiento: Época I: 25,1 mm; Época II: 30,7 mm. Fuente: Agustí *et al.*, 1994a.

La respuesta es creciente con la concentración hasta 75 mg/l, superada ésta no se obtiene ningún efecto adicional. Además, se observa como un retraso en el momento de la aplicación reduce marcadamente la respuesta. Resultados similares a los expuestos se han encontrado con otras auxinas de síntesis. Entre ellas, se han mostrado más eficaces el tioester etílico del ácido 4-cloro-o-toliloxiacético (Fenotiol) (Aznar et al., 1995b) y el 3,5,6-TPA (Agustí et al., 1994b), que se aplican a 20 y 15 mg/l, respectivamente. Incrementos entre 3 y 6 mm en el diámetro medio de los frutos, según especies y variedades, se logra con la aplicación de estas auxinas en las condiciones descritas (Tabla 15).

Tabla 15. Incremento medio del diámetro (mm) del fruto de diversas variedades de cítricos logrado con auxinas de síntesis. Adaptado de Agustí *et al.*, 1995a.

	2,4-DP (50 mg l⁻¹)	Fenotiol (20 mg l⁻¹)	3,5,6-TPA (15 mg l⁻¹)
M. Clementina fina	4.4	3.2	6.1
M. Esbal		4.2	
M. Oronules	4.9	1.9	5.0
M. Marisol	2.8	2.0	6.1

.../...

.../...

	2,4-DP	Fenotiol	3,5,6-TPA
M. Clemenules	2.8	1.8	3.2
M. Hernandina	4.3		7.6
M. Satsuma	4.4		4.3
M. Nova	2.2	2.1	4.9
M. Fortune	6.9	3.0	9.9
N. Navelina	4.4	2.7	
N. Navelate	4.2	1.6	3.9
N. Salustiana	3.8		
N. Valencia	4.3		3.8

Más importante que el efecto citado sobre el diámetro medio de los frutos es la nueva distribución de los calibres comerciales de los frutos de árboles tratados (Figura 21). En general, se reduce el número de frutos de calibres más bajos y aumenta el de los frutos de calibres elevados y de mayor valor comercial. Este efecto indica, además, que todos los frutos del árbol tratado son afectados por la auxina, independientemente de su tamaño.

El efecto sobre el crecimiento del fruto conseguido con la aplicación de auxinas de síntesis no altera las características intrínsecas del fruto en el momento de la maduración. Los cambios que se producen se deben exclusivamente, en la mayor parte de los casos, al incremento de tamaño que el fruto experimenta (Agustí et al., 1991a; 1992; Almela et al., 1991) (Tabla 16). A pesar de ello, como se ha demostrado para el 2,4-DP, el contenido en pulpa del fruto es siempre mayor, tanto en valor absoluto como relativo al peso del fruto, independientemente del tamaño de éste. Esto indica un efecto directo de la auxina sobre el desarrollo de la pulpa, que está basado en un estímulo del crecimiento celular (El-Otmani et al., 1993) y, por tanto, en la acumulación de materia seca. Ninguna otra parte del fruto sufre variaciones. Respuestas similares presentan el Fenotiol y el 3,5,6-TPA.

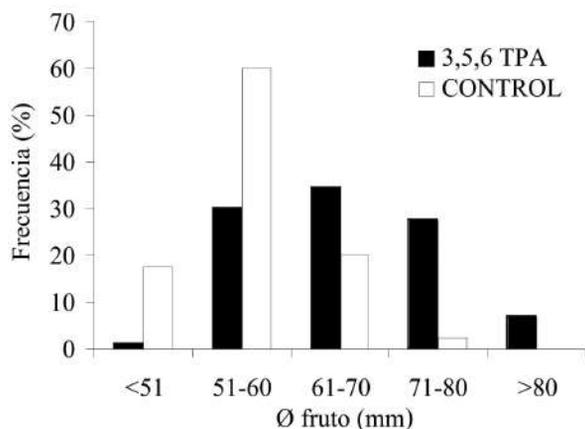


Figura 21. Distribución de los diámetros de los frutos de árboles de mandarina Satsuma, cv. 'Okitsu', tratados con 3,5,6-TPA (15 mg l⁻¹) y sin tratar. Diámetro del fruto en el momento del tratamiento: 22.0 ± 0.3 mm.

Tabla 16. Efecto del 2,4-DP (75 mg l⁻¹) sobre el contenido en corteza, zumo y pulpa de los frutos de mandarina Clementina 'Fina'. Comparación entre frutos tratados y sin tratar de igual tamaño. Diámetro en el momento del tratamiento: 17.3 ± 0.3 mm. Letras diferentes indican diferencias significativas p≤0.05. Fuente: Agustí *et al.*, 1992.

	Diámetro del fruto (mm)							
	45		55		65		70	
	Control	2,4-DP	Control	2,4-DP	Control	2,4-DP	Control	2,4-DP
Corteza								
g / fruto	12.8	13.4	24.6	24.3	37.4	36.5	49.1	47.8
%	32.8	33.0	39.5	37.0	42.5 a	41.0 b	46.9 a	44.8 b
Zumo								
g / fruto	17.4	17.8	26.7	28.2	37.5	37.1	40.8	40.6
%	44.8	43.5	43.0	42.8	42.6	41.8	39.1	38.1
Pulpa								
g / fruto	8.6	9.6	11.0 a	13.3 b	13.2 a	15.3 b	14.6 a	18.2 b
%	22.2	23.5	17.7 a	20.2 b	15.0 a	17.4 b	14.0 a	17.1 b

El contenido en corteza, expresado en porcentaje respecto del fruto, no es modificado por la aplicación de auxinas de síntesis, pero su valor absoluto es mayor como corresponde a frutos de mayor tamaño (Tabla 17). Como consecuencia de ello, su espesor es, asimismo, superior en la mayor parte de los casos. Pero dicho incremento en el espesor de la corteza es inferior al que cabría esperar como consecuencia del aumento de su peso total (en general, incrementos superiores al 15% en el contenido en corteza se traducen en incrementos inferiores al 10% en su espesor) y, por consiguiente, su compacidad y resistencia aumentan (Agustí *et al.*, 1991a; 1991b; 1993a; 1993b; Almela *et al.*, 1991). Este tipo de respuesta de la corteza es de especial interés en las mandarinas 'Fortune' y 'Satsuma'.

Tabla 17. Efecto de diferentes auxinas de síntesis sobre las características del fruto maduro de la mandarina 'Clemenules'. Diámetro en el momento del tratamiento: 24.3 ± 0.2 mm. Concentraciones aplicadas, Fenotiol: 20 mg l⁻¹; 2,4-DP: 50 mg l⁻¹; 3, 5, 6-TPA: 15 mg l⁻¹.

	Control	Fenotiol	2,4 -DP	3,5,6 - TPA
corteza				
%, p / p	35.6	34.4	34.8	34.5
Espesor (mm)	3.9	4.1	3.6	4.1
Zumo				
%, p / p	46.2	47.8	47.7	47.2
Acidez (%)	1.0	0.9	1.0	1.2
TSS, °Brix	13.0	12.8	13.2	13.0

En la mandarina ‘Fortune’, los vientos fríos y secos dañan su corteza provocando la aparición de un “picado” o punteado marrón que reduce notablemente su calidad. Si bien el “picado” aparece tanto en frutos testigos como tratados, el porcentaje de estos últimos que presentan la alteración es sensiblemente inferior, como consecuencia de la mayor resistencia de su corteza. Este aspecto ha sido demostrado con la utilización de 3,5,6-TPA y 2,4-DP (Agustí et al., 1991b; Almela et al., 1991).

En la mandarina ‘Satsuma’, el “bufado” se origina durante las primeras fases del crecimiento del fruto y se manifiesta de modo intenso durante el cambio de color, coincidiendo con épocas lluviosas. La separación entre la pulpa y corteza se ve favorecida por el crecimiento final que esta última experimenta cuando el fruto alcanza la maduración. La aplicación de auxinas finalizando la caída fisiológica de frutos no evita la aparición del “bufado”, ya que la proporción de frutos que presentan la alteración es idéntica en los procedentes de árboles control y tratados, pero su manifestación externa o importancia comercial es marcadamente reducida por acción de los tratamientos. Este aspecto ha sido demostrado con la utilización de 2,4-DP (Agustí et al., 1991b; 1994a; Almela et al., 1991).

3•2•3•2 Mecanismo de acción de las auxinas de síntesis sobre el desarrollo del fruto

El efecto directo de las auxinas de síntesis sobre el desarrollo del fruto es similar para todas ellas. Este efecto se manifiesta a través de un crecimiento generalizado de todos los tejidos del fruto. Sin embargo, solamente la pulpa es directamente afectada por la acción de la auxina, mientras que el contenido en zumo y el peso de la corteza dependen del tamaño del fruto y no del tratamiento. Este tipo de acción no es sólo característico del 2,4-DP, sino que es compartido por el Fenotiol y el 3,5,6-TPA (Agustí et al., 1991a; 1992; 1993a; 1993b; El-Otmani et al., 1993)

El estímulo sobre el crecimiento de la pulpa explica la dependencia de la respuesta obtenida respecto de la época de aplicación. Esta es óptima cuando la aplicación se efectúa finalizando la caída de junio; es decir, una vez se ha completado la fase de proliferación celular y se inicia la fase de expansión celular y acumulación de zumo (Bain, 1958).

La aplicación de las auxinas aumenta el tamaño de los lóculos y el de las vesículas de zumo, pero el número de éstas y el de filas de células por vesícula, observadas 20 días después del tratamiento, no cambia (Tabla 18). Por lo tanto, solamente el peso de las vesículas es afectado por el tratamiento, debido principalmente a una mayor acumulación de materia seca. Como consecuencia de este efecto, el fruto aumenta su capacidad para acumular zumo, y crece más y a mayor velocidad.

Tabla 18. Efecto del 2,4-DP (50 mg l⁻¹) sobre las características del fruto de la mandarina ‘Fortune’. Los valores del peso y contenido en agua de las vesículas son de los frutos maduros y el resto de los parámetros de frutos tomados 20 días después del tratamiento. Fuente: El-Otmani *et al.*, 1993.

Características	Control	2,4-DP
Ø Fruto (mm)	22 a	26,7 b
Corteza (g/fruto)	20 a	29,7 b
Anchura de los lóculos		
Radial (mm)	5,3 a	7,2 b
Tangencial (mm)	2,9 a	4,0 b

.../...

.../...

Características	Control	2,4-DP
<i>Vesículas/lóculo, según</i>		
Anchura radial	4,0	4,2
Anchura tangencial	5,6	6,0
<i>Vesículas</i>		
Longitud (mm)	1,31 a	1,75 b
Anchura (mm)	0,52 a	0,62 b
Peso fresco (mg)	26,1 a	42,3 b
Peso seco (mg)	3,66 a	4,65 b
<i>Zumo/vesícula</i>		
mg	22,5 a	37,6 b
% (p/p)	86	89
<i>Células epidérmicas de las vesículas</i>		
Anchura tangencial (µm)	33,3 a	54,8 b
Anchura radial (µm)	21,8 a	29,1 b
Filas de células/vesícula	24,06	24,83

Este tipo de estudios, sin embargo, presentan siempre una dificultad de interpretación dado que los frutos más grandes son siempre los tratados. Es decir, los efectos auxina y tamaño del fruto se presentan siempre juntos. El estudio de frutos de igual tamaño, tratados y sin tratar, permite discernir, no obstante, si las diferencias encontradas son debidas a la acción de la auxina aplicada o, simplemente, al mayor tamaño de los frutos. Bajo esta condición, los lóculos de los frutos sin tratar y tratados poseen las mismas dimensiones y el contenido en corteza de ambos tipos de fruto es el mismo; solamente el peso de las vesículas es alterado por los tratamientos (Agustí et al., 1995b; Aznar et al., 1995b). Dado que su contenido en agua no es modificado, el aumento del peso fresco registrado es debido al aumento del peso seco de las vesículas (Tabla 19) que acumularon mayor cantidad de materia seca en sus células, lo que ratifica el efecto directo sobre el desarrollo del fruto atribuido a las auxinas.

Una prueba adicional de este efecto directo lo constituye el aumento del diámetro de los pedúnculos de los frutos, detectado paralelamente al aumento de su tamaño. Este efecto no altera, sin embargo, la relación entre ambos parámetros, e indica un incremento de la capacidad sumidero del fruto que estimula el transporte de agua y nutrientes hacia él, aumentando así el alargamiento celular y, por tanto, su tamaño (Agustí et al., 1992; 1993b; El-Otmani et al., 1993). También se ha demostrado un efecto directo de las auxinas de síntesis sobre el desarrollo del floema y el xilema del pedúnculo que contribuye a mejorar el tamaño final del fruto (Mesejo et al., 2003).

La pérdida progresiva de respuesta asociada al retraso en la época de aplicación, indica que el alargamiento celular decae con el tiempo y se precisa de una mayor concentración de la auxina para reactivarlo (Agustí et al., 1991a; 1993a; El-Otmani et al., 1993).

La acción hormonal endógena y los efectos obtenidos con la aplicación de auxinas de síntesis ha sido revisada por El-Otmani et al. (1995; 2000).

Tabla 19. Características de los lóculos y las vesículas de frutos maduros del mismo tamaño de la mandarina 'Clementina fina'. Efecto de la concentración de 3,5,6-TPA. Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas $p \leq 0,05$. Fuente: Agustí *et al.*, 1995b.

Características		Concentración 3,5,6-TPA (mg l ⁻¹)		
		0	10	20
Fruto	Ø (mm)	49,53	49,10	49,23
Corteza	Peso/fruto (g)	13,50	13,40	13,25
Vesículas	Peso fresco (mg)	23,75 a	23,98 a	25,38 b
	Peso seco (mg)	3,44 a	3,68 ab	4,06 b
	Agua (mg)	20,31	20,30	21,32
Lóculos	Anchura (mm)	12,81	13,33	13,12
	Longitud (mm)	16,80	16,20	16,91

4 • LA MADURACIÓN DE LOS FRUTOS

La maduración se define como el conjunto de cambios externos, de sabor y de textura que un fruto experimenta cuando completa su crecimiento. Esta fase de su desarrollo incluye procesos como la coloración del pericarpio, el descenso en el contenido en almidón, incremento de la concentración de azúcares, reducción de la concentración de ácidos, pérdida de firmeza, y otros cambios físicos y químicos. Superada esta fase, el fruto pierde turgencia, aumenta su sensibilidad a las condiciones del medio, pierde el control metabólico e inicia su senescencia. Esta puede ser postpuesta, tanto antes como después de la recolección; pero el fruto, como todo órgano vivo, es mortal, aunque sus semillas, si las posee, sobreviven y perpetúan la especie. Brady (1987) y Tucker y Grierson (1987), han estudiado con profundidad este proceso.

El proceso de la maduración varía con los frutos, de modo que a este respecto es posible clasificarlos en dos grandes grupos, según su comportamiento fisiológico. Unos acumulan almidón durante su crecimiento y en la maduración lo hidrolizan hasta monosacáridos, glucosa y fructosa sobre todo; como ello exige una gran cantidad de energía, en estos frutos la maduración se caracteriza por un aumento de la respiración. Este incremento de la respiración, que es irreversible, recibe el nombre de climaterio y viene precedido por un aumento en la concentración activa de etileno en los espacios intercelulares del mesocarpio. Otros acumulan directamente monosacáridos durante su crecimiento y, por tanto, durante la maduración no experimentan incrementos significativos de su tasa respiratoria. Los del primer grupo se denominan frutos climatéricos, y los del segundo son frutos no climatéricos. En los primeros el aumento en la producción de etileno que tiene lugar durante la maduración, o precediéndola, es responsable de los cambios bioquímicos que conducen irreversiblemente a ella. En los segundos los cambios que se producen son similares, pero menos intensos y más lentos, en general, y no están relacionados con la síntesis de etileno. Los cítricos pertenecen a este grupo.

El hecho de que la aplicación exógena de etileno pueda desencadenar el climaterio en los frutos climatéricos próximos a la madurez, e inducir en ellos el proceso autocatalítico de su síntesis, y promover la coloración de los no climatéricos, define a éste como la hormona de la maduración.

4•1 LA MADURACIÓN DE LOS FRUTOS CÍTRICOS

4•1•1 Evolución. Control endógeno

Los frutos cítricos inmaduros son de color verde. Durante la maduración, las clorofilas se degradan y los pigmentos naranja o amarillos de la piel comienzan a aumentar su presencia. Esta misma tendencia se observa en el color del zumo de naranja. Por tanto, el contenido total en carotenoides, tanto de la corteza como del zumo, aumenta a medida que madura el fruto.

En la mayoría de las variedades los frutos situados en el noreste del árbol adquieren un color más intenso que los situados en la cara suroeste, y en estos últimos la cara expuesta al exterior presenta menos intensamente la coloración. Entre ambos tipos de frutos aparecen diferencias, tanto cualitativas como cuantitativas, respecto al contenido en carotenoides. Las condiciones ambientales, fundamentalmente temperatura (Young y Erickson, 1961), humedad (Soule y Grierson, 1986) y luminosidad (Iwagaki, 1981), son pues factores esenciales en la determinación del color. Otros factores, como el tipo de suelo (González-Sicilia, 1968) y el patrón (Forner, 1985), contribuyen también a su manifestación.

La desverdización natural del fruto o su reverdimiento son consecuencias de la transformación reversible de los cloroplastos del exocarpo en cromoplastos. Según Huff (1984), la acumulación de azúcares en este tejido durante la maduración es el principal factor regulador de la coloración del fruto y, por tanto, de la metamorfosis de los plastidios. Por tanto, la disponibilidad por fotoasimilados del fruto puede ser un factor de maduración. De hecho, concentraciones elevadas de azúcares (sacarosa) provocan la formación de cromoplastos en el exocarpo de naranja cultivado *in vitro*, y este tejido aumenta su contenido en sacarosa a medida que lo hace la concentración de ésta en el medio de cultivo (Huff, 1983; 1984).

El cultivo *in vitro* de discos de hojas de tabaco ha demostrado que la presencia de sacarosa (2%) en el medio de cultivo provoca un importante aumento de la producción de etileno. Esta síntesis se ha relacionado con el estímulo que la sacarosa provoca sobre la hidrólisis de conjugados de ácido indolacético, liberándose este ácido que es el responsable de la síntesis de etileno. No es descartable, por tanto, que el aumento de la concentración de sacarosa en la corteza del fruto sea la causa de la producción de etileno en el exocarpo del fruto, de un modo similar a como ocurre en los discos de hojas de tabaco.

El etileno aplicado en cámara (10 ppm; 48 h; 20°C, 95% HR) a los frutos cítricos reduce rápidamente el tamaño de los cloroplastos y promueve su desaparición. Ello sugiere que el etileno activa algunos enzimas responsables de la degradación de las membranas tilacoidales. Por otro lado, se ha demostrado un aumento de la actividad clorofilásica y del contenido enzimático en el citoplasma, inducidos por el etileno, durante la maduración natural de los frutos cítricos (Shimokawa et al., 1978).

El contenido en nitrógeno de la corteza, en interacción con los azúcares, es otro de los factores endógenos que controlan la coloración del fruto. La presencia del ión nitrato en un medio que contenga sacarosa inhibe la coloración promovida por el azúcar en el exocarpo del fruto cultivado *in vitro*. El nitrógeno, por tanto, inhibe la degradación de las clorofilas mientras que la sacarosa inhibe su síntesis y promueve su degradación (Huff, 1983; 1984). Todo ello ha permitido proponer a Huff (1983) que los cambios de color que el fruto experimenta (desverdización natural o reverdecimiento) como respuesta a la temperatura y otros factores ambientales, pueden explicarse en base a los cambios que dichos factores provocan en el contenido en azúcares y nitrógeno de la corteza. Las bajas temperaturas del aire y del suelo que se registran en otoño-invierno reducen la absorción radicular y el transporte de nitrógeno al fruto, con lo que éste deja de acumularlo. Durante estas épocas, además, apenas hay desarrollo vegetativo pero el fruto prosigue el suyo, por lo que se convierte en el sumidero más potente de los fotoasimilados que se sigue produciendo. Esta reducción del contenido en nitrógeno y la acumulación de azúcares en la corteza deben provocar, de acuerdo con los resultados conocidos, la coloración del fruto, como así ocurre en esta época. Durante la primavera, como consecuencia de la elevación de la temperatura, la absorción y transporte de nitrógeno se reinician, renovándose el aporte de este elemento al fruto, el desarrollo vegetativo compite con él como sumidero de fotoasimilados y el fruto puede, así, llegar a reverdecer, especialmente como respuesta a una fertilización nitrogenada elevada.

Del 75 al 85% de los sólidos solubles totales del zumo de naranjas, mandarinas, pomelos y limones son azúcares. De entre ellos, la sacarosa, glucosa y fructosa son los más abundantes y se encuentran en proporciones 2:1:1. En las variedades de primera y media campaña el contenido en azúcares aumenta rápidamente a medida que el fruto madura, debido sobre todo a la acumulación de sacarosa. Estos frutos continúan su maduración cuando la temperatura desciende. Pero en variedades tardías la maduración se da cuando la temperatura tiende a elevarse, y la sacarosa aumenta su contenido en el fruto relativamente poco. Esta cinética no parece clara en el caso de los pomelos.

La temperatura es el factor más influyente en el contenido en sólidos solubles totales (SST) y en la acidez (A). Esta acción térmica afecta, sobre todo, a esta última, de modo que cuanto más alto es el régimen térmico día/noche, más baja es la concentración de ácidos (Reuther y Rios-Castaño, 1969). El descenso en la acidez se ha atribuido a la rápida respiración de ácidos orgánicos que tiene lugar a estas temperaturas (Davies y Albrigo, 1994). Pero la influencia de la temperatura sobre los SST no está tan clara. Así, se ha indicado que, en la naranja 'Valencia', los contenidos más elevados en SST se obtienen en frutos de áreas subtropicales, pero la conclusión de muchos estudios, combinando regímenes térmicos, climas y zonas de cultivo en diferentes estados del desarrollo del fruto, es la falta de respuesta sistemática del contenido en SST a las variaciones térmicas (Nii et al., 1970; Reuther, 1973; Yamanishi, 1994).

La acidez del zumo de la mayor parte de los frutos cítricos se debe, en gran medida, al ácido cítrico. El pH del zumo varía, generalmente, entre valores de 2, para limones y otros frutos ácidos, y 5, para mandarinas y naranjas. Tanto en naranjas y pomelos como en mandarinas, los ácidos libres aumentan en el fruto durante los primeros estados de desarrollo y permanecen, aproximadamente, constantes en su concentración hasta la maduración en que descienden como consecuencia, fundamentalmente, de la dilución provocada por el aumento de tamaño del fruto.

La concentración de SST en el zumo también se ha relacionado con la temperatura de las raíces. En las naranjas 'Valencia', 'Washington navel' (Cary y Weerts, 1978) y 'Navelina' (Cutore et al., 1988), una temperatura del suelo de alrededor de 25°C da lugar a contenidos más bajos de SST que una temperatura de 19°C. Estos resultados coinciden con el menor contenido en SST de los frutos de árboles cultivados en suelos arenosos (González-Sicilia, 1968). Estos suelos tienen un calor específico más bajo que los arcillosos y, por consiguiente, se calientan más fácilmente.

4.1.2 Control exógeno de la maduración

Muchos de los aspectos relacionados con la maduración de los frutos cítricos se hallan regulados y controlados hormonalmente (El-Otmani et al., 1995; 2000). En ellos, la coloración y la maduración interna, a pesar de ser coincidentes en el tiempo, son dos procesos distintos y regulados, probablemente, por mecanismos diferentes.

La aplicación de ácido giberélico antes de que el fruto cambie de color, retrasa la degradación de las clorofilas (Coggins y Hield, 1958) (Figura 22; Foto 17) y la acumulación de carotenoides de su corteza. Este efecto se halla asociado a un retardo de la senescencia, lo que permite retrasar la recolección del fruto sin pérdidas apreciables de su calidad. La adición de compuestos nitrogenados estimula esta acción del ácido giberélico (Agustí et al., 1981; 1988; García-Luis et al., 1985). El fosfato biamónico (1,5%), nitrato amónico (1,8%), nitrato potásico (2%), nitrato cálcico (2%) y urea (0,8%) se han mostrado eficaces en este sentido (Jackson et al., 1992) (Figura 22).

Este efecto antagónico del ácido giberélico en la transformación de cloroplastos en cromoplastos es de gran interés teórico y puede explicar no sólo la coloración de los frutos, sino su reverdecimiento en ciertas variedades cuando se mantienen en el árbol tras el período invernal. De acuerdo con la hipótesis de Huff (1983), cuando las temperaturas descienden aumenta el contenido en carbohidratos y se reduce el de nitrógeno en la corteza de los frutos, promoviendo su entrada en color (ver apt. 4.1.1); a ello, contribuye el descenso de la síntesis de giberelinas, localizado en los ápices radiculares y caulinares que ven reducido así su transporte a los frutos. Por el contrario, cuando las temperaturas aumentan, el árbol reanuda su actividad, y se incrementa la competencia por carbohidratos entre el fruto y el desarrollo vegetativo, y se reinicia la

absorción y transporte de sustancias nitrogenadas y la síntesis de giberelinas endógenas, que son, también, transportadas al fruto. Cuando ello ocurre, la síntesis de clorofilas se reanuda y los carotenoides se degradan: los cromoplastos revierten su ultraestructura a cloroplastos. Y este proceso tiene lugar aunque estos orgánulos estén embebidos en los tejidos de frutos que continúan su senescencia y se hallan próximos a su final, lo que independiza la maduración externa, definida por su color, de la senescencia.

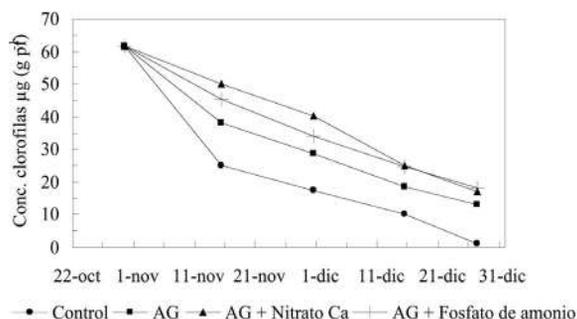


Figura 22. Efecto del ácido giberélico (AG, 10 mg/l) y su combinación con sales nitrogenadas en el contenido en clorofilas de la corteza de la mandarina 'Fortune'. Nitrato de Calcio (2%), Fosfato amónico (1.5%). Fuente: Jackson *et al.*, 1992.



Foto 17. Retraso del color. La aplicación de 10 mg l⁻¹ de ácido giberélico antes de que el fruto cambie de color retrasa la coloración del mismo. Frutos de mandarina Satsuma, cv. 'Okitsu' tratados (derecha) y sin tratar (izquierda).

El estímulo de la coloración del fruto puede lograrse con la aplicación de etileno. La acción de este gas sobre la desverdización de los frutos cítricos fue descubierta hace más de 70 años (Denny, 1924), y ha sido utilizada comercialmente en áreas cítricas que precisan desverdizar sus frutos o para adelantar la comercialización de variedades precoces, a concentraciones entre 10 y 20 ppm, en cámaras con temperatura del aire de 25°C y HR del 95%, lográndose efectos satisfactorios con períodos de tratamiento entre 48 y 72 horas.

En horticultura la aplicación de etileno se inició con la llegada del CEPA (ácido 2-cloroetilfosfónico; ethrel; ethephon), sustancia que, una vez absorbida por la planta, desprende etileno. En citricultura, la aplicación de 200 mg/l de ethephon, 20-25 días antes del cambio de color del fruto, promueve su coloración medida por su ICC (índice de coloración de los cítricos; Jiménez-Cuesta et al., 1981). Este efecto se ha mostrado especialmente interesante en variedades precoces, en las que combinando su acción con la desverdización en cámaras de etileno se consigue anticipar en 15 días su recolección, sin alterar las características internas (Pons et al., 1992; Figura 23). El único efecto negativo de estos tratamientos es la defoliación que pueden producir, lo que se ha conseguido reducir marcadamente con la adición de sales de calcio (nitrato o acetato) a una concentración de 4,5 g l⁻¹ de Ca⁺. Estas sales, sin embargo, restan eficacia a la acción del ethephon en la degradación de clorofilas.

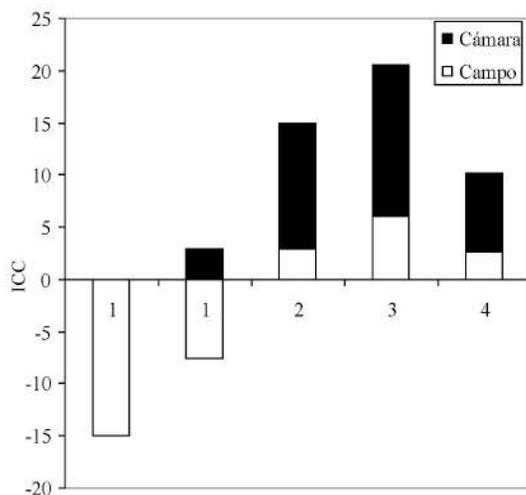


Figura 23. Evolución del ICC de los frutos de la mandarina 'Marisol' tratados el 2 de octubre con 200 mg/l de ethephon (4) en combinación con nitrato (2%) (2) y acetato de Ca (2,4%) (3). (1): Control. Fecha de medición: 15 de octubre. Fuente: Pons *et al.*, 1992.

Las aplicaciones de Figaron® (éster etílico del ácido 5-cloro-1H-3-indazolacético; IZAA) han dado buenos resultados para el estímulo de la maduración (Kamuro y Hirai, 1981). Aplicaciones llevadas a cabo en España muestran que 200 ppm de esta sustancia aplicada a mediados de julio pueden anticipar entre 7 y 10 días la entrada en color de variedades precoces de mandarinas (Tabla 20) (Pons et al., 1989). La persistencia en los tejidos del fruto del etileno generado tras su aplicación (Hirose, 1981), puede explicar este efecto. Estos experimentos han demostrado, también, que esta sustancia provoca en todos los casos, un incremento del contenido en sólidos solubles totales del zumo, sin afectar su acidez, lo que supone un incremento del índice de madurez. Hasta el momento ninguna otra sustancia capaz de alterar la coloración de los frutos, retardándola o adelantándola, ha mostrado eficacia sobre su maduración interna. Resultados similares han sido demostrados en la mandarina 'Clausellina' y en la naranja 'Navelina' (Casas y Mallent, 1983; 1986).

El triacantanol (TRIA), un alcohol de 30 átomos de C de origen vegetal y que es producido también por varios insectos, se ha mostrado moderadamente eficaz para reducir el contenido en acidez libre de los frutos cítricos (Wilson, 1990). En España, los resultados de los ensayos efectuados con mandarinas precoces son erráticos y no justifican su utilización.

Tabla 20. Efecto de la aplicación de Figaron sobre las características y maduración de los frutos de las mandarinas 'Satsuma' y 'Oroval'. Fuente: Pons *et al.*, 1989.

Tratamiento	Fruto (g)	Corteza %	Zumo				Clorofila $\mu\text{g} / \text{g ps corteza}$
			% (p/p)	$^{\circ}\text{Brix}$	Acidez (%)	E/A	
Mandarina 'Satsuma'							
Control	92.2	27.9	55.0	9.9 a	1.79	-	137.6 a
Tratado	91.1	27.9	57.0	11.2 b	1.74	-	107.3 b
Mandarina 'Oroval'							
Control	55.6	26.7	53.6	9.38 a	2.22	4.23 a	223.6 a
tratado	57.1	26.0	53.2	9.68 b	2.10	4.61 b	167.6 b

4•2 SENESCENCIA. ALTERACIONES ASOCIADAS



Foto 18. Síntomas iniciales, aparición de grietas y fruto senescente de mandarina 'Clemenules' (*pixat*).

Superada la fase II de crecimiento lineal del fruto, éste inicia su senescencia, cambia de color y madura. Su conservación en el árbol hasta etapas avanzadas de esta fase lleva aparejada la aparición de alteraciones en su corteza (Foto 18). En las mandarinas Clementinas son muy características y consisten, sobre todo, en manchas pardo marrones, provocadas por la rotura de glándulas de

aceite y en pequeñas grietas blanquecinas que se forman en cualquier zona de la superficie de la corteza, y característicamente alrededor de cáliz (Foto 19) (Agustí et al., 1988). Alteraciones de este tipo también pueden verse en naranjas. En todas las variedades el fruto sufre, al mismo tiempo, un ablandamiento de la corteza. Humedades elevadas seguidas de periodos secos, las altas temperaturas, las lluvias, los vientos fuertes y, en general, las condiciones climáticas propias de la época de maduración de estos frutos agravan, progresivamente, la pérdida de calidad del fruto.

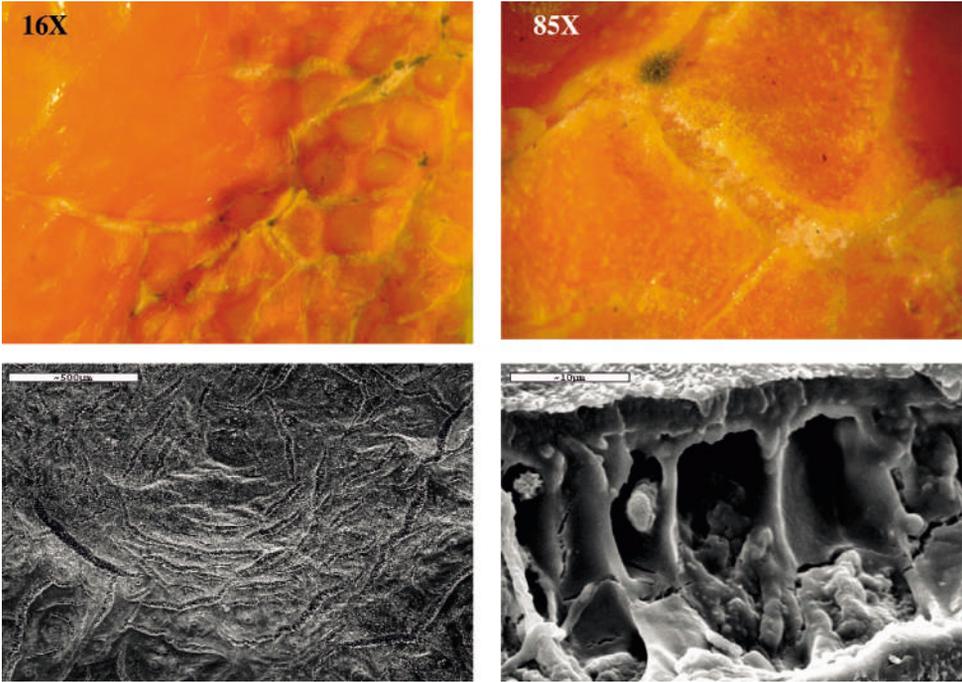


Foto 19. Microfotografías de las grietas producidas sobre la corteza de la mandarina Clementina durante su senescencia (*pixaf*).

La causa de todas estas alteraciones es el envejecimiento de la corteza. La aplicación de ácido giberélico a los agrios cuando el fruto inicia el cambio de color, retarda su senescencia y lo protege de las alteraciones citadas, lo que ha hecho que esta sustancia sea ampliamente utilizada para regular la recolección de naranjas, pomelos, limones y mandarinas.

Una sola aplicación de ácido giberélico, a una concentración de 5 mg/l, cuando comienza a desaparecer la clorofila de la corteza del fruto es suficiente para conseguir este efecto. Como ya se ha dicho, la adición de compuestos nitrogenados mejora la respuesta a la aplicación de ácido giberélico (Figura 24). En todos los casos la eficacia en la respuesta depende, críticamente, de la época de aplicación, siendo óptima cuando los tratamientos se llevan a cabo al inicio del cambio de color del fruto o antes; la intensidad de la respuesta se pierde progresivamente con el retraso de la aplicación sin que un incremento de la concentración aplicada mejore su eficacia. Además, los tratamientos son siempre preventivos puesto que si la alteración ya existe es imposible su eliminación.

Salvo su coloración las características del fruto no son alteradas por el tratamiento. Este progresa como lo haría en ausencia del tratamiento, y así en las mandarinas 'Clemenules' y 'Hernandina', con marcada tendencia a la pérdida de zumo cuando se supera su maduración hortícola, es éste parámetro el que limita su conservación en el árbol y no las alteraciones de la corteza. Ello unido a la dependencia que la efectividad presenta respecto de la época de aplicación, revela el efecto directo del ácido giberélico sobre el control de la senescencia de la corteza, siendo éste y no el retraso en la maduración el que reduce la sensibilidad a las alteraciones. El retraso en la pérdida de clorofilas se interpreta como una manifestación indirecta del efecto de esta sustancia sobre el mantenimiento de los tejidos en un estado relativamente juvenil (McGlasson et al., 1978).

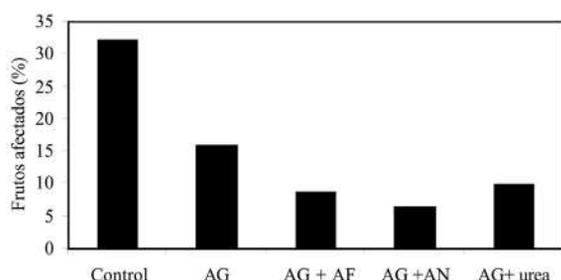


Figura 24. Influencia de la de la adición de sales nitrogenadas sobre la respuesta a la aplicación de ácido giberélico (10 mg l^{-1}) para reducir la incidencia de alteraciones asociadas a la senescencia. Valores para la mandarina 'Clemenules'. AF: fosfato amónico, 1.5%; AN: nitrato amónico, 1.8%; Urea, 0.8%. Adaptado de Agustí *et al.*, 1988.

La adición de 2,4-D no mejora la respuesta, pero en algunas variedades de naranja y de híbridos, esta sustancia, aplicada a una concentración de 15 mg l^{-1} y antes de que se inicie el proceso, evita la caída del fruto (Tabla 21), etapa final de la senescencia de los frutos (Foto 20). La abscisión del fruto maduro no se halla asociada a la presencia de las alteraciones citadas, pero la adición de esta auxina a los tratamientos con ácido giberélico resulta imprescindible cuando se quiere posponer su recolección. Otras auxinas de síntesis, como el 3,5,6-TPA, el 2,4-DP y el Fenotiol, se han mostrado igualmente eficaces para reducir la abscisión del fruto maduro (Tabla 21) (Almela *et al.*, 1997).

Tabla 21. Efecto de la aplicación de auxinas de síntesis sobre la abscisión del fruto maduro del naranjo dulce. Influencia de la fecha del tratamiento. Valores para el cv. 'Navelate'. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Fuente: Almela *et al.*, 1997.

Tratamiento	Abscisión (%)		Tratamiento	Abscisión (%)
	23 marzo	31 mayo		
Control	31,8 a	70,2 a	Control	43,2 a
30 oct.	5,9 b	15,6 b	2,4-D, 15 mg l^{-1}	11,2 b
26 nov.	2,4 b	18,7 b	2,4-D + AG, 10 mg l^{-1}	11,6 b
22 dic.	5,5 b	14,1 b	2,4-D, 15 mg l^{-1}	24,1 c
30 oct. + 22 dic.	2,3 b	7 c	Fenotiol, 15 mg l^{-1}	28,4 c
			3,5,6-TPA, 15 mg l^{-1}	9,6 b

Por la época en que se llevan a cabo, estos tratamientos reducen la brotación y floración siguientes, disminuyendo el porcentaje de brotes florales sin hojas y aumentando el de brotes con hojas, con lo que la floración se reduce significativamente. Esta respuesta cabe atribuirla no solo al efecto del ácido giberélico y/o del 2,4-DP sino, y de modo más notable, al retraso en la recolección.



Foto 20. Abscisión del fruto maduro en naranjo dulce 'Salustiana' después de un viento moderado en el mes de Febrero.

5 • REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agustí M. 1980. Biología y control de la floración en el género Citrus. Tesis Doctoral, Univ. Politécnica. Valencia. España
- Agustí M. 1999. El desarrollo de los frutos cítricos. Factores y estímulo. En: IV Congreso de Citricultura de la Plana, Ed. Bromera, LAV. S.A., Valencia: 79-99.
- Agustí M. 2000a. Crecimiento y maduración del fruto. En: *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Azcón-Bieto, J. y Talón, M. (eds.). McGraw-Hill Interamericana, Madrid: 419-433.
- Agustí M. 2000b. *Citricultura*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Agustí M y Almela V. 1984. *Mejora de la calidad del fruto de la mandarina Satsuma*. Bco. de Santander, Madrid, España. ISBN: 84-398-1798-3.
- Agustí M y Almela V. 1989. El cultivo de la mandarina Fortune en España. Problemas y perspectivas. *Frutic. Prof.*, 25: 39-48.
- Agustí M y Almela V. 1991. *Aplicación de fitoreguladores en citricultura*. ED. AEDOS, Barcelona, España
- Agustí M, Almela V y Aznar M. 1990. Rayado y tamaño final del fruto en los agrios. *Actas de Horticultura*, 6: 101-106.
- Agustí M, Almela V, Aznar M, El-Otmani M y Pons J. 1994a. Satsuma mandarin fruit size increased by 2,4-DP. *HortScience*, 29: 279-281.
- Agustí M, Almela V, Aznar M, Juan M. y Eres V. 1995a. *Desarrollo y tamaño final del fruto en los agrios*. Generalitat Valenciana, Seria D.T. n. 32, 80 pp., Valencia, España.
- Agustí M, Almela V, Aznar M, Pons J y El-Otmani M. 1992. The use of 2,4-DP to improve fruit size in citrus. *Proc. Int. Soc. Citricultura*, 1: 423-427.
- Agustí M, Almela V y Guardiola JL. 1981. The regulation of fruit cropping in mandarins through the use of growth regulators. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1: 216-220
- Agustí M, Almela V y Guardiola JL. 1988. Aplicación de ácido giberélico para el control de alteraciones de la corteza de las mandarinas asociadas a la maduración. *Invest. Agr. Prod. Prot. Veg.*, 3: 125-137.
- Agustí, M, Almela V, Juan M, Aznar M y Ferriz R. 1993a. Aumento del tamaño del fruto en mandarinas mediante la aplicación de Fenotiol. *Lev. Agríc.*, 322: 22-27.
- Agustí M, Almela V, Juan M, Aznar M, Zaragoza S y Primo-Millo E. 1993b. Aplicación de 3,5,6,-TPA para aumentar el tamaño del fruto en los agrios. *Lev. Agríc.*, 323: 117-126.
- Agustí M, Almela V, Juan M, Lapica P, Salvia J, Alonso E, Trenor I y Zaragoza S. 1997. Influencia de la época de rayado en la producción del mandarino 'Fortune'. *Lev. Agríc.*, 341: 293-300.
- Agustí M, Almela V, Juan M, Primo-Millo E, Trenor I y Zaragoza S. 1994b. Effect of 3,5,6-trichloro-2-pyridyloxyacetic acid on fruit size and yield of 'Clausellina' mandarin (Citrus unshiu Marc.). *J. Hort. Sci.*, 69: 219-223.

- Agustí M, Almela V y Pons J. 1989. Rayado y tamaño final del fruto en el mandarina Satsuma (*Citrus unshiu*, Marc). *Agric. Verg.*, 90: 321-323.
- Agustí M, Almela V y Pons J. 1991a. Efecto del 2,4-DP sobre el desarrollo y tamaño final del fruto de la mandarina 'Clementina Fina' (*Citrus reticulata* Blanco). *Lev. Agríc.*, 307/308: 4-12.
- Agustí M, Almela V y Pons J. 1991b. Tratamientos para aumentar el tamaño del fruto en los agrios. *Generalitat Valenciana, F.D. 91-1*, Valencia, España.
- Agustí M, Almela V y Pons J. 1992. Effects of girdling on alternate bearing in citrus. *J. Hort. sci.*, 67: 203-210
- Agustí M, Andreu I, Juan M, Almela V y Zacarías L. 1998. Effects of ringing branches on fruit size and maturity of peach and nectarine cvs. *J. Hort. Sci. and Biot* 73(4): 53-540.
- Agustí M, El-Otmani M, Aznar M, Juan M y Almela V. 1995b. Effect of 3,5,6-trichloro-2-pyridyloxyacetic acid on 'Clementine' early fruitlet development and on fruit size at maturity. *J. Hortic. Sci.* 70: 955-962.
- Agustí M, García-Marí F y Guardiola JL. 1982a. Gibberellic acid and fruit set in sweet orange. *Scientia Hortic.*, 17: 257-264.
- Agustí M., García-Marí F y Guardiola JL. 1982b. The influence of flowering intensity on the shedding of reproductive structures in sweet orange. *Scientia Hortic.*, 17: 343-352.
- Almela V, El-Otmani M, Pons J y Agustí M. 1991. Aumento del tamaño final del fruto mediante la aplicación de 2,4-DP. *Valoración agronómica. Lev. Agríc.*, 309/310: 86-94.
- Almela V, Juan M, Lapica P, Salvia J y Agustí M. 1997. Control de la abscisión del fruto maduro en los cítricos. *C.V. Agraria*, 10: 15-22.
- Arbeloa A y Herrero M. 1987. The significance of the obturator in the control of pollen tube entry into the ovary in peach (*Prunus persica*). *Ann. Bot.* 60: 681-685.
- Arias M. 1999. Cuantificación y evolución de poliaminas en los cítricos. Comparación de especies con diferente comportamiento reproductivo. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica. Valencia.
- Aznar M, Almela V, Juan M, El-Otmani M y Agustí M. 1995a. Efecto de la aplicación del ácido 3,5,6-tricloro-2-piridiloxiacético sobre la abscisión y el desarrollo del fruto de la mandarina 'Oronules'. *Inv. Agr. Prod. Prot. Veg.*, 10: 31-37.
- Aznar M, Almela V, Juan M, El-Otmani M y Agustí M. 1995b. Effect of the synthetic auxin phenothiol on fruit development of 'Fortune' mandarin. *J. Hort. Sci.*, 70: 617-621
- Bain JM. 1958. Morphological, anatomical and physiological changes in the developing fruit of the Valencia orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Aust. J. Bot.*, 6: 1-24.
- Bellato M, Castro PRC y Agustí M. 1998. Alternância de produção em citros. *Laranja*, 19: 293-304.
- Ben-Cheikh W, Pérez-Botella J, Tadeo FR, Talón M y Primo-Millo E. 1997. Pollination increases gibberellin levels in developing ovaries of seeded varieties of citrus. *Plant Physiol.*, 114: 557-564.

- Brady CJ. 1987. Fruit ripening. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 38: 155-178.
- Cary PR y Weerts PGJ. 1978. Factors affecting growth, yield and fruit composition of Washington navel and Late Valencia orange trees. *Proc. Int. Soc. Citriculture*: 77-86
- Casas A y Mallent D. 1983. Aclareo químico y modificación de la maduración de mandarinas 'Clausellinas' con Figaron (éster etílico del ácido 5-cloro-1H-3-indazolacético). *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 23: 360-368.
- Casas A y Mallent D. 1986. Efecto del Figaron (éster etílico del ácido 5-cloro-1H-3-indazolacético) sobre la calidad de las naranjas 'Navelina' y las mandarinas 'Satsumas'. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 26: 239-248.
- Castle WS. 1987. Citrus rootstocks. En: *Rootstocks for fruit crops*, R.C. Rom y R.F. Carlson (Eds.), John Wiley and Sons, Nueva York EEUU, pp 361-399.
- Coggins CW Jr y Hield HZ. 1958. Gibberellin on orange fruit. *Calif. Agr.*, 12: 11.
- Cohen A. 1981. Recent developments in girdling of citrus trees. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1: 196-199.
- Cohen A. 1984a. Citrus fruit enlargement by means of summer girdling. *J. Hort. Sci.*, 59: 119-125.
- Cohen A. 1984b. Effect of girdling date on fruit size of Marsh Seedless grapefruit. *J. Hort. Sci.*, 59: 567-573.
- Cresti M, Pacini E, Ciampolini F y Sarfatti G. 1977. Germination and early tube development in vitro of *Lycopersicon peruvianum* pollen: ultrastructural features. *Planta* 136: 239-247.
- Cutore L, Licata R, Parrini F y Sardo V. 1988. Effects of soil heating on 'Navelina' orange. *Proc. 6th Int. Citrus Cong.*, 2: 723-729
- Chapman JC. 1984. Ethephon as a fruit thinning agent for 'Murcott' mandarins. *Scientia Hort.*, 24: 135-141.
- Chapman HD y Rayner DS. 1951. Effects of various maintained levels of phosphate on the growth, yield, composition and quality of Washington navel oranges. *Hilgardia*, 20: 325-358.
- Dann IR, Jerie PH y Chalmers DJ. 1985. Short-term changes in cambial growth and endogenous IAA concentrations in relation to phloem girdling of peach, *Prunus persica* (L.) Batsch. *Aust. J. Plant Physiol.*, 12: 395-402.
- Davies SF y Albrigo LG. 1994. *Citrus*. CAB International, Wallingford, UK
- Deidda, P. y Agabbio, M. 1977. Some factors influencing flowering and fruit-set of 'Clementine' mandarin. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, vol. 2: 688-692.
- Del Rivero JM. 1968. *Los estados de carencia en los agrinos*. Ed. Mundi Prensa. Madrid.
- Denny FE. 1924. Effect of ethylene upon respiration of lemon. *Bot. Gaz.*, 77: 322-329.
- Derksen J, Amstel V, Rutten T, Knuiman B, Li Y y Pierson E. 1999. Pollen tubes: cellular organization and control of growth. En: *Anther and Pollen*. Clement C, Pacini E and Audran JC(eds.). Springer, Berlin: 161-175.

- Dhawan AK y Malik CP. 1981. Effect of growth regulators and light on pollen germination and pollen tube growth in *Pinus roxburghii* Sarg. *Ann. Bot.* 47: 239-248.
- Dhingra HR y Varghese TM. 1985. Effect of growth regulators on the in vitro germination and tube growth of maize (*Zea mays* L.) pollen from plants raised under sodium chloride salinity. *New Phytol.* 100: 563-569.
- Dickinson HG. 1995. Dry stigmas, water and self-incompatibility in Brassica. *Sex Plant Reprod.* 8: 1-10
- Eissenstat DM y Duncan LW. 1992. Root growth and carbohydrate responses in bearing citrus trees following partial canopy removal. *Tree Physiol.*, 1: 245-257.
- El-Otmani M, Agustí M, Aznar M y Almela V. 1993. Improving size of 'Fortune' mandarin fruits by the auxin 2,4-DP. *Scientia Hortic.*, 55: 283-290.
- El- Otmani M, Coggins C W Jr, Agustí M. y Lovatt CL. 2000. Plant Growth Regulators in Citriculture: World Current Uses. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 19: 395-447.
- El- Otmani M, Lovatt CL, Coggins C W Jr, y Agustí M. 1995. Plant Growth Regulators in Citriculture: Factors Regulating Endogenous Levels in Citrus Tissues. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 15(5): 367-412.
- El-Zeftawi BM. 1976. Effects of Ethephon and 2,4,5-T on fruit size, rind pigments and alternate bearing of Imperial mandarin. *Scientia Hortic.*, 5: 315-320.
- Embleton TW, Reitz HJ y Jones WW. 1973. Citrus fertilization. En: *The Citrus Industry*, vol III, W. Reuther (ed.), Univ. Calif., Div. Agr. Sci., California, EEUU, pp 122-182
- Erdtman G. 1971. *Pollen morphology and plant taxonomy. Angiosperms*. Hafner Publishing Company. New York.
- Erickson LC y Richards SJ. 1955. Influence of 2,4-D and soil moisture on size and quality of Valencia orange. *Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci.*, 65: 109-112.
- Eti S y Stosser R. 1992. Pollen tube growth and development of ovules in relation to fruit set in mandarins, cv. 'Clementine' (*Citrus reticulata* Blanco). *Acta Hortic.* 321: 621-625.
- Fahn A. 1982. *Anatomía Vegetal*. Ed. Pirámide, Madrid: 428-503
- Fishler M, Goldschmidt EE y Monselise SP. 1983. Leaf area and fruit size on girdled grapefruit branches. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.*, 108: 218-221.
- Forner JB. 1985. Características de los patrones de agrios tolerantes a Tristeza. *Generalitat Valenciana, Valencia, Spain*
- Forner JB, Alcaide A, Verdejo-Lucas S, y Sorbías FJ. 1996. New hybrids as citrus rootstocks in Spain. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1: 167-170.
- Forner JB, Forner MA, Alcaide A, Verdejo-Lucas S y Sorribas FJ. 2000. New hybrid citrus rootstocks released in Spain. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, Abstr: 53.

- Frost HB y Soost RK. 1968. Seed reproduction: development of gametes and embryos. En: *Citrus Industry* Vol. II, W. Reuther, LD Barchelor y HJ Webber (eds.). Univ. Calif., Div. Agr. Sci., California: 290-320.
- Furr, J.R. y W.W. Armstrong. 1956. Flower unduction in Marsh grapefruit in the Coachella Valley, California. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 67: 176-182
- Gallasch PT. 1978. Thinning Imperial mandarins with Ethephon increased fruit size and grower returns. *Proc. Int. Soc. Citriculture*: 276-279.
- Gallasch PT. 1988. Chemical thinning of heavy crops of mandarins to increase fruit size. *Proc. 6th Int. Citrus Congress*, 1: 395-405.
- García-Luis A, Agustí M, Almela V, Romero E y Guardiola JL. 1985. Effect of gibberellic acid on ripening and peel puffing in 'Satsuma' mandarin. *Scientia Horticulturae*, 27: 75-86.
- García-Luis A, Almela V, Monerri C, Agustí M. y Guardiola JL. 1986. Inhibition of flowering in vivo by existing fruits and applied growth regulators in Citrus unshiu. *Physiol. Plant* 66: 515-520.
- García-Marí F, Agustí M, Barberá J y Guardiola JL. 1980. Potasio y desarrollo inicial del fruto en la variedad de naranjo Navelate. *Rev. Agroquim. Technol. Aliment.*, 20: 257-272.
- García-Papí MA y García-Martínez JL. 1984. Endogenous plant growth substances content in young fruits of seeded and seedless Clementine mandarin as related to fruit set and development. *Scientia Hort.*, 22: 265-274.
- Geitmann A. 1997. Growth and formation of the cell wall in pollen tubes of *Nicotiana tabacum* and *Petunia hybrida*. Hänssel-Hohenhausen Egelsbach Frankfurt Washington
- Geitmann A. 1999. The rheological properties of the pollen tube cell wall. En: *Fertilization in Higher Plants*. Cresti, M., Cai, G. y Moscatelli, A. (eds.). Springer, Berlin: 283-302.
- Goldschmidt EE, Aschkenazi N, Herzano Y, Schaffer A y Monselise SP. 1985. A role of carbohydrate levels in the control of flowering in citrus. *Scientia Hort.*, 26: 159-166.
- Goldschmidt EE y Monselise SP. 1972. Hormonal control of flowering in citrus and some other woody perenials. En: Carr, D. J. (ed.) *Plant growth Substances* 1970, Springer-Verdag, New York, pp. 758-766.
- Goldschmidt EE y Monselise SP. 1977. Physiological assumptions toward the development of a citrus fruiting model. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2: 668-672
- González-Sicilia E. 1968. *El cultivo de los agrios*, 3rd. edit., Ed. Bello, Valencia, Spain
- Gravina A, Arbiza H, Arias M y Ronca F. 1997. Estudio de la floración en el tanjor 'Ellendale' (citrus sinensis L. Osb. X C. reticulata BL.) y su relación con el cuajado de frutos y productividad. *Agrociencia*, 1: 55-59.
- Gravina A, Arbiza H y Balbi V. 1994. Efecto de aplicaciones de ácido giberélico y anillado sobre la producción de tangor 'Ellendale' (citrus sinensis L. Osb. X C. reticulata BL.) en Uruguay. *Fruticultura Profesional*, 61: 17-22.

- Gravina A, Rabiza H, Juan M, Almela V y Agustí M. 1996. Flowering-fruiting interrelationships in 'Ellendale' tangor under the growing conditions of Spain and Uruguay. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2: 1081-1085
- Greene, L. 1937. Ringing and fruit setting as related to nitrogen and carbohydrate content of Grimes Golden apples. *J. Agric. Res*, 54: 863-875
- Guardiola JL. 1980. Aumento del tamaño del fruto en Satsuma y Clementinas. Problemas y perspectivas. Comité de Gestión para la Exportación de frutos cítricos. 15 p.
- Guardiola JL y Agustí M. 1984. El diagnóstico foliar en los agríos. Un análisis crítico. *Lev. Agríc.*, 249/250: 16-50.
- Guardiola JL, Agustí M y García-Marí F. 1977. Gibberellic acid and flower bud development in sweet orange. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2: 696-699.
- Guardiola JL, Agustí M, Barberá J y García-Marí F. 1980. Influencia de las aplicaciones de ácido giberélico durante la brotación en el desarrollo de los agríos. *Rev. Agroquím. Technol. Aliment.*, 20: 139-143.
- Guardiola JL, Monerri C y Agustí M. 1982. The inhibitory effect of gibberelic acid on flowering in Citrus. *Physiol. Plant*. 55: 136-142.
- Hernández-Miñana FM, Furió J, Ibáñez R y Primo-Millo E. 1988. Efecto de la aplicación de benciladenina sobre el cuajado del fruto y la productividad en el naranjo Navelate. *Lev. Agríc.*, 285/286: 171-174.
- Herrero M. 2000. Changes in the ovary related to pollen tube guidance. *Ann. Bot.* 85 (Sup A): 79-85.
- Herrero M. 2001. Ovary signals for directional pollen tube growth. *Sex Plant Reprod.* 14: 3-7.
- Herrero M y Arbeloa A. 1989. Influence of the pistil on pollen tube kinetics in peach (*Prunus persica*). *Amer. J. Bot.* 76: 1441:1447.
- Herrero M y Dickinson HG. 1979. Pollen-pistil incompatibility in *Petunia hybrida*: changes in the pistil following compatible and incompatible intraespecific crosses. *J. Cell Sci.* 36: 1-18.
- Herrero M y Dickinson HG. 1981. Pollen tube development in *Petunia hybrida* following compatible and incompatible intraspecific matings. *J. Cell Sci.* 47: 365-383.
- Heslop-Harrison J. 1975. The physiology of the pollen grain surface. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 190: 275-299.
- Heslop-Harrison J. 1983. Self-incompatibility: phenomenology and physiology. *Proc. Roy. Soc. London Ser B* 218: 371-395.
- Heslop-Harrison J, Heslop-Harrison Y y Reger BJ. 1985. The pollen-stigma interaction in the grasses. Pollen tube guidance and the regulation of tube number in *Zea mays* L. *Acta Botanica Neerlandica*. 34: 193-211.

- Higashiyama T, Kuroiwa H, Kawano S y Kuroiwa T. 1998. Guidance in vitro of the pollen tube to the naked embryo sac of *Torenia fournieri*. *Plant Cell*. 10: 2019-2031.
- Hilgeman RE. 1951. Irrigation of Valencia Oranges. *Calif. Citrograph*, 36.
- Hirose K. 1981. Development of chemical thinners of commercial use for Satsuma mandarin in Japan. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1: 256-260.
- Hirose K, Iwagaki I, y Suzuki K. 1978. IZAA (5-chloroindazol-8-acetic acid ethyl ester) as a new thinning agent of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). *Proc. Int. Soc. Citriculture*: 270-273.
- Hochberg R, Monselise SP y Costo J. 1977. Summer girdling and 2,4-D effects on grapefruit size. *HortScience*, 12: 228.
- Hodgson RW. 1967. Horticultural varieties of citrus. En: *The Citrus Industry*, vol 1, W. Reuther, L.D. Batchelor y H.J. Webber (Eds). Univ. Calif., Div. Agr. Sci., California, EEUU, pp 431-591.
- Huff A. 1983. Nutritional control of regreening and degreening in citrus peel segments. *Plant Physiol.*, 73: 243-249.
- Huff A. 1984. Sugar regulation of plastid interconversions in epicarp of citrus fruit. *Plant Physiol.*, 76: 307-312.
- Insa I y Vidal S. 1994. Polen de las comarcas del Comtat y l' Alcoià. Colección Técnica. Instituto de cultura "Juan Gil-Albert". Alicante, 1994.
- Iwagaki I. 1981. Tree configuration and pruning of Satsuma mandarin in Japan. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1: 169-172 Konar RN. 1958. Effect of IAA and kinetin on pollen tubes of *Pinus roxburghii* Sar. *Curr Sci*. 6: 216-217.
- Iwahori S. 1978. Use of growth regulators in the control of cropping of mandarin varieties. *Proc. Int. Soc. Citriculture*: 263-270.
- Jackson PR, Agustí M, Almela V y Juan M. 1992. Tratamientos para mejorar la conservación del fruto de la mandarina Fortune. *Lev. Agríc.*, 317: 16-22
- Jiménez-Cuesta M, Cuquerella J y Martínez-Jávega JM. 1981. Determination of a color index for citrus fruit degreening. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2: 750-753.
- Jones W W, Coggins CW Jr y Embleton TW. 1977. Growth regulators and alternance bearing. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2: 657-660.
- Jones WW, Embleton TW y Steinacker ML. 1957. Nitrogen fertilizers as related to orange quality and yield. *Calif. Citrograph*, 43: 3-12.
- Kamuro Y y Hirai K. 1981. Physiological activity of Ethylchlozate. Fruit thinning and maturity accelerating effects for citrus. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1: 260-263.
- Kriedemann PE y Barrs HD. 1981. Citrus orchards. En: *Water deficits and plant growth*, T.T. Kozlowski (Ed.), Academic Press, Nueva York, EEUU, pp 325-417
- Konar, R.N. 1958. Effect of IAA and kinetin on pollen tubes of *Pinus roxburghii* Sar. *Curr Sci*. 6: 216-217

- Kurtzman RH. 1966. Xylem sap flow as affected by metabolic inhibitors and girdling. *Plant Physiol.*, 41: 641-646.
- Kwan SC, Hamson AR y Campbell WF. 1969. The effects of diffrents chemicals on pollen germination and tube growth in *Allium cepa* L. *J. Amer. Soc. Hort. Sci. for Horticultural Science*, 94. 561-563.
- Legaz F y Primo-Millo E. 1988. Normas para la fertilización de los agrios. Generalitat Valenciana. *Fulletts Divulgació*, Nº 5-88, Valencia, España.
- Li X. 1990. Study on relation of plant pollen germination and phytohormones. *Acta Sci. Nat. Univ. Norma Hurman* 13: 248-252.
- Linskens HF y Esser K. 1957. Über eine spezifische Anfärbung der Pollenschläuche in Griffel und die Zahl der Kallossepropten nach selbstung und Fremdung. *Naturwissenschaften* 44,16.
- Lord E. 2000. Adhesion and cell movement during pollination: cherchez la femme. *Trends Plsnt Sci.* 5: 368-373
- Martínez- Fuentes A, Mesejo C, Juan M, Almela V y Agustí M. 2003. Restrictions on the exogenous control of flowering in citrus. *Acta Horticulturae* (en prensa).
- Mascarenhas JP. 1978. Sexual chemotaxis and chemotropism in plants. En: *Taxis and behaviour. Elementary sensory systems in biology. Receptors and recognition*, Hazelbaner GL (ed), series B5. Chapman and Hall, Londres.
- Mascarenhas JP y Machlis L. 1962. The pollen tube chemotropic factor from *Antirrhinum* to calcium. *Plant Physiol.* 39: 70-77.
- McGlasson WB, Wade NL y Adato I. 1978. Phytohormones and fruit ripening. En: *Phytohormones and related compounds: A comprehensive treatise*, D.S. Letham, P.B. Goodwin y T.J.V. Higgins (Eds.), vol II, Elsevier, Amsterdam, Holland.
- McClure BA, Gray JE, Anderson MA y Clarke AE. 1990. Self-incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen rRNA. *Nature* 347:757-760.
- McLeod KA. 1975. The control of growth of tomato pollen. *Ann. Bot.* 39: 591-596.
- Mehouchi J, Serna D, Zaragoza S, Agustí M, Talón M y Primo-Millo E. 1995. Defoliation increases fruit abscission and reduces carbohydrate levels in developing fruits and woody tissues of *Citrus unshiu*. *Plant Sci.*, 107: 189-197.
- Mesejo C, Martínez-Fuentes A, Juan M, Almela V y Agustí M. 2003. Vascular tissues development of citrus fruits peduncle is promoted by synthetic auxins. *Plant Growth Regul.* 39: 131-135.
- Monselise SP. 1977. Citrus fruit development: endogenous systems and external regulation. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2: 664-668.
- Monselise SP y Goldschmidt EE. 1982. Alternate bearing in fruit trees. *Hort. Review*, 4: 128-173.
- Monselise SP, Goldschmidt EE y Golomb A. 1981. Alternate bearing in citrus and ways of control. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1: 232-242.

- Monselise S P, Goren R y Wallerstein I. 1972. Girdling effects on orange fruit set and young fruit abscission. HortScience, 7: 514-515.
- Monselise SP y Halevy AH. 1964. Chemical inhibition and promotion of citrus flower bud induction. Amer. Soc. Hort. Sci., 84: 141-146
- Moss GI 1971. Effect of fruit on flowering in relation to biennial bearing in sweet orange (*Citrus sinensis*). J. Hort Sci., 46: 177-184.
- Moss GI y Bellamy. 1973. The use of gibberellic acid to control flowering of sweet orange. Acta Horticulturae 34: Symposium on Growth Regulators in Fruit Production 207-212.
- Moss GI, Steer BT y Kriedemann PE. 1972. The regulatory role of inflorescence leaves in fruit-setting by sweet orange (*Citrus sinensis*). Physiol. Plant, 27: 432-438.
- Nasrallah JB, Stein JC, Kandasamy NK y Nasrallah ME. 1994. Signalling the arrest of pollen tube development in self-incompatible plants. Science 266: 1505-1508.
- Nii N, Harada K y Kadowaki K. 1970. Effects of temperature on the fruit growth and quality of Satsuma oranges. J. Jap. Soc. Hortic. Sci., 39: 309-317
- Noma Y. 1981. Effect of ethyl 5-chloro-1H-3-indazolylacetate on fruit thinning of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). Proc. Int. Soc Citriculture, 1: 271-275.
- Ortolá AG, Monerri C y Guardiola JL 1991. The use of naphthalene acetic acid as a fruit growth enhancer in Satsuma mandarin: a comparison with the fruit thinning effect. Scientia Hortic., 47: 15-25.
- Pons J, Almela V y Agustí M. 1989. Efectos de las aplicaciones de Figaron (etilclozate) en la maduración de las mandarinas Oroval (*Citrus reticulata*. Blanco) y Satsuma (*Citrus unshiu*. Marc.). Lev. Agríc., 289/290: 19-24.
- Pons J, Almela V, Juan M y Agustí M. 1992. Use of ethephon to promote color development in early ripening Clementine cultivars. Proc. Int. Soc. Citriculture, 1: 459-462
- Pons J, Pastor J, Polls M y Reverter AJ. 1996. Polinización cruzada en cítricos III. Polinización entomófila. Efecto de repelentes. Lev. Agríc., 337: 291-295.
- Primo-Millo E y Legaz F. 1983a. Fertilización N-P-K, 1ª Parte. Lev. Agríc., 245: 39-59.
- Primo-Millo E y Legaz F. 1983b. Fertilización N-P-K, 2ª Parte. Lev. Agríc., 246: 104-118.
- Puffer RE. 1949. Irrigation and small sizes. Calif. Citrograph, 34.
- Reuther W. 1973. Climate and citrus behavior. En: *The citrus industry*, Vol. III, W. Reuther (Ed.), Univ. California, Div. Agricultural Science, Berkeley, USA, pp 280-337
- Reuther W, y Rios-Castaño D. 1969. Comparison of growth, maturation and composition of citrus fruits in subtropical California and tropical Colombia. Proc. 1st Int. Citrus Symp., 1: 277-300
- Roper TR y Williams LE. 1989. Net CO₂ assimilation and carbohydrate partitioning of grapevine leaves in response to trunk girdling and gibberellic acid application. Plant Physiol., 89: 1136-1140.

- Saenz de Rivas C. 1978. *Polen y Esporas. Introducción a la palinología y vocabulario palinológico*. H. Blume Ediciones. Madrid.
- Saidha T, Goldschmidt EE y Monselise SP. 1985. Endogenous cytokinins from developing "Shamouti" orange fruits derived from leafy and leafless inflorescences. *Scientia Hort.*, 26: 35-41.
- Schneider H. 1968. The anatomy of Citrus. En: *The Citrus Industry*, vol. II, Reuther W, Batchelor LD y Webber HJ (Eds.), University of California, Div. Agric. Sci., California, E. E. U. U.
- Shimokawa K, Shimada S y Yaeo K. 1978. Ethylene-enhanced chlorophyllase activity during degreening of Citrus unshiu. *Marc. Scientia Hort.*, 8: 129-135.
- Sinclair WB. 1984. *The biochemistry and physiology of the lemon and other citrus fruits*. Univ. Calif., Div. Agric. Nat. Res., California, EEUU.
- Skene KGM. 1972. The effect of ringing on cytokinin activity in grape vine shoots. *J. Exp. Bot.*, 23: 768-774.
- Smoyer KM. 1946. Citrus-avocado irrigation. *Citrus Leaves*, 26.
- Soler J. 1999. *Reconocimiento de variedades de cítricos en campo*. Generalitat Valencia. Sèrie Divulgació Técnica, n. 43, Valencia, España.
- Soule J y Grierson W. 1986. Maturity and grade standards. En: *Fresh citrus fruits*, W.F. Wardowski, S. Nagy y W. Grierson (Eds.), The AVI Publishing Co., Westport, Connecticut, EE.UU.
- Stolz LP y Hess CE. 1966. The effect of girdling upon root initiation - carbohydrates and aminoacids. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 89: 744-751.
- Syvertsen JP y Lloyd JJ. 1994. Citrus. En: *Handbook of environmental physiology of fruits crops. Vol. II, Subtropical and tropical crops*, B. Schaffer y P.C. Andersen (Eds.), CRC Press, Boca Ratón, Florida, EEUU, pp 65-99
- Takahashi N, Yamaguchi I, Kono T, Igoxhi M, Hirose K y Suzuki K. 1975. Characterization of plant growth substances in Citrus unshiu and their change in fruit development. *Plant Cell Physiol.*, 16: 1101-1111.
- Talón M, Hedden P y Primo-Millo E. 1990. Gibberellins in Citrus sinensis: A comparison between seeded and seedless varieties. *J. Plant Growth Regul.*, 9: 201-206
- Talón M., Zacarías L y Primo-Millo E. 1992. Gibberellins and parthenocarpic ability in developing ovaries of seedless mandarins. *Plant Physiol.*, 99: 1575-1581.
- Talón M, Juan M, Soler J, Agustí M y Primo-Millo E. 1999. Criterios de racionalización de las aplicaciones de ácido giberélico para mejorar el cuajado de los frutos cítricos. *Lev. Agríc.*, 347: 128-133.
- Tian HQ y Russel SD. 2000. Calcium changes in ovules and embryo sacs of *Plumbago zeylanica* L. *Sex Plant Reprod.* 13: 11-20
- Tucker GA y Grierson D. 1987. Fruit ripening. En: *The biochemistry of plants*. Davies (Ed.). Volume 12. Academic Press, Londres, 265-318.

- Vanniere H y Arcuset P. 1989. Amélioration du calibre des clémentines en Corse par l'emploi du dichorprop. *Fruits*, 44: 393-400.
- Wallerstein I, Goren R y Monselise SP. 1973. Seasonal changes in gibberellin-like substances of Shamouti orange (*Citrus sinensis* (L) Osb) trees in relation to ringing. *J. Hortic. Sci.*, 48: 75-82.
- Wallerstein I, Goren R y Monselise SP. 1974. The effect of girdling on starch accumulation in sour orange seedlings. *Can. J. Bot.*, 52: 935-937.
- Wallerstein I, Goren R y Monselise SP. 1978. Rapid and slow translocation of ¹⁴C-sucrose and ¹⁴C-assimilates in *Citrus* and *Phaseolus* with special reference to ringing effect. *J. Hortic. Sci.*, 53: 203-208.
- Wheaton, T.A. 1981. Fruit thinning of Florida mandarins using plant growth regulators. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1: 263-268.
- Wheaton TA y Stewart I. 1973. Fruit thinning of tangerines with naphthalene acetic acid. *Proc. Fla. State Hort.*, 86: 48-52.
- Wilhelmi LK y Preuss D. 1996. Self-esterility in *Arabidopsis* due to defective pollen tube guidance. *Science* 274: 1535-1537.
- Wilson W. 1990. Use of triacontanol (TRIA) to change maturity parameters of *Citrus* fruit. XXIII Int. Hortic. Congress, 1: 1912 (abstr.).
- Wu HM, Wang H y Cheung AY. 1995. A pollen tube growth stimulatory glycoprotein is deglycosylated by pollen tubes and displays a glycosylation gradient in the flower. *Cell* 82. 395-403.
- Yamanishi OK. 1994. Effect of spring day/night temperatures on flower development. Fruit set and fruit quality on strangulated pummelo trees. *J. Jap. Soc. Hortic. Sci.*, 63: 493-504
- Young LB y Erickson LC. 1961. Influence of temperature on color change in Valencia oranges. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 78: 197-200.
- Zaragoza S, Trenor I, Alonso E, Primo-Millo E y Agustí M. 1992. Treatments to increase the final fruit size on Satsuma 'Clausellina'. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2: 725-728.

Sèrie Divulgació Tècnica n° 55

Cuajado y Desarrollo de los Frutos Cítricos

Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación

2 0 0 3

Se autoriza la reproducción íntegra de esta publicación,
mencionando su origen.

ISBN 84-482-3591-6



9 788448 235918