



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

# **Biología reproductiva del peral (*Pyrus communis* L.): compatibilidad, capacidad partenocárpica y polinización cruzada de los cultivares Abate Fetel y Williams**

Andrea Carolina Fasiolo Ferreiro

Magíster en Ciencias Agrarias  
opción Ciencias Vegetales

Julio 2021

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Dra. Gabriela Speroni, Dr. Norberto Gariglio, y Dra. Giuliana Gambetta el 20 de Julio de 2021. Autora: Ing. Agr. Carolina Fasiolo. Director Dr. Roberto Zoppolo, Co-director M.Sc. Alfredo Gravina.

Dedico este trabajo a Ema, José y Juan Martín.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia por acompañarme en todo el proceso y ser sostén y motivación para seguir superándome.

A Roberto y a Alfredo por ser mis tutores y acompañarme en cada paso.

A Beatriz y a Gabriela por todos sus aportes y sugerencias durante los seminarios.

Al tribunal por la evaluación y las sugerencias que enriquecieron el trabajo.

A todo el equipo del Programa Nacional de Investigación en Producción Frutícola de INIA por el apoyo durante el trabajo de campo.

A la Unidad de Posgrado y Educación Permanente de la Facultad de Agronomía, Universidad de la República y al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias por darme la oportunidad de realizar este trabajo.

## TABLA DE CONTENIDO

	página
PÁGINA DE APROBACIÓN .....	II
AGRADECIMIENTOS .....	IV
RESUMEN .....	VIII
SUMMARY.....	IX
<b>1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. <u>BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL PERAL</u>.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.1. <u>Floración</u>.....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.2. <u>Morfología y anatomía de la flor</u> .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.3. <u>Polinización y período de polinización efectiva</u> .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.3.1. Factores que afectan la polinización .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.4. <u>Biología del polen</u>.....</b>	<b>9</b>
<b>1.1.5. <u>Plantas polinizantes</u>.....</b>	<b>9</b>
<b>1.1.6. <u>Esterilidad y compatibilidad</u> .....</b>	<b>9</b>
<b>1.1.7. <u>Cuajado de frutos</u>.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1.8. <u>Partenocarpia</u>.....</b>	<b>12</b>
<b>1.1.9. <u>Crecimiento del fruto</u>.....</b>	<b>11</b>
<b>1.1.9.1. Factores que afectan el crecimiento del fruto .....</b>	<b>13</b>
<b>1.2. <u>HIPÓTESIS DE TRABAJO</u>.....</b>	<b>14</b>
<b>2. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1. <u>EVALUACIONES EN CAMPO</u>.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1.1. <u>Estudio de autocompatibilidad y capacidad partenocárpica</u>..</b>	<b>16</b>
<b>2.1.2. <u>Polinizaciones dirigidas</u>.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.3. <u>Mediciones en campo y cosecha</u>.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2. <u>ANÁLISIS DE LABORATORIO</u>.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2.1. <u>Análisis microscópico de flores</u>.....</b>	<b>18</b>
<b>3. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>.....</b>	<b>20</b>

<b>3.1. ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE FLORES.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1.1 <u>Germinación de polen <i>in vivo</i>.....</u></b>	<b>20</b>
<b>3.1.2 <u>Crecimiento del tubo polínico.....</u></b>	<b>23</b>
<b>3.1.3 <u>Viabilidad de los óvulos.....</u></b>	<b>26</b>
<b>3.2. EVALUACIONES EN CAMPO.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.1. <u>Evolución de la abscisión y porcentaje de cuajado final.....</u></b>	<b>28</b>
<b>3.2.2. <u>Tamaño de fruto y presencia de semillas.....</u></b>	<b>33</b>
<b>4. <u>CONCLUSIONES</u> .....</b>	<b>38</b>
<b>5. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....</b>	<b>39</b>
<b>6. <u>ANEXOS</u>.....</b>	<b>49</b>
<b>‘Compatibilidad, capacidad partenocárpica y polinización cruzada de los cultivares de pera ‘Abate Fetel’ y ‘Williams’</b>	

## RESUMEN

La producción de peras en Uruguay oscila año a año, sin alcanzar una estabilidad productiva adecuada. El peral (*Pyrus communis* L.) presenta autoincompatibilidad e intercompatibilidad, con alta capacidad partenocárpica reportada en el cultivar 'Williams'. Las causas de la variabilidad en la producción son numerosas, siendo la variación en la tasa de polinización un factor determinante. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la biología reproductiva, y evaluar la compatibilidad genética de los cultivares 'Abate Fetel' y 'Williams' con otras fuentes de polen, para las condiciones agroclimáticas uruguayas. Las flores de cada cultivar se seleccionaron en el estado fenológico de botón cerrado (F1 según Fleckinger, 1965). En 'Abate Fetel', 60 flores se embolsaron con una malla anti insectos (autopolinizadas), 60 fueron emasculadas y embolsadas (sin polinizar) y otras 120 se emascularon, se polinizaron manualmente (60 flores con cada polinizante) y luego se embolsaron (polinización cruzada). Para las polinizaciones cruzadas dirigidas se utilizaron los cultivares 'Williams precoz' y 'BP1' utilizado a nivel productivo como portainjerto. En 'Williams' el cultivar polinizante fue el cultivar 'Packham's Triumph'. Simultáneamente, se tomaron muestras de flores de cada tratamiento a los 2, 5 y 7 días después de la aplicación del tratamiento, para estudiar la germinación de los granos de polen y el crecimiento del tubo polínico. En el campo, el cuajado se evaluó quincenalmente a partir de la caída de los pétalos; en cosecha se determinó el número y tamaño de los frutos y la presencia de semillas. Los resultados permitieron confirmar que 'Abate Fetel' presenta autoincompatibilidad de tipo gametofítico, deteniendo el crecimiento de su tubo polínico en la primera mitad del estilo. Para el mismo cultivar, los tratamientos de flores autopolinizadas y sin polinizar dieron como resultado un 0 % de cuajado evaluado 30 días después de la aplicación del tratamiento. La polinización manual (polinización cruzada) alcanzó el 58 % ('BP1') y el 76 % ('Williams precoz') de cuajado. En 'Williams' los tratamientos de autopolinización y emasculado sin polinización, resultaron en un 13 % y 14 % de cuajado respectivamente, mientras que las flores con polinización cruzada alcanzaron el 40 %.

**Palabras clave:** autoincompatibilidad, cuajado, floración, Bartlett, polen

## **Reproductive biology of the pear tree (*Pyrus communis*): compatibility and parthenocarpic capacity characterization of Abate Fetel and Williams cultivars**

### **SUMMARY**

Pear production in Uruguay fluctuates from year to year, without achieving adequate stability. Pear (*Pyrus communis* L.) has self-incompatibility and intercompatibility, with high parthenocarpic capacity estimated in 'Williams' cultivar. There are numerous causes for variability, being pollination rate a determining factor. The objective of this work was to characterize the reproductive biology, and to evaluate the genetic compatibility of 'Abate Fetel' and 'Williams' cultivars with other sources of pollen, under Uruguayan agroclimatic conditions. The flowers of each cultivar were selected at the phenological state of closed bud (F1 according to Fleckinger, 1965). In 'Abate Fetel', 60 flowers were bagged with an anti-insect mesh (self-pollinated), 60 were emasculated and bagged (not pollinated) and other 120 were emasculated, hand-pollinated and then bagged (cross-pollinated). For cross pollinations, 'Early Bon Chretien' and the commercial rootstock 'BP1' cultivars were used. In 'Williams', pollinator was the cultivar 'Packham's Triumph'. Simultaneously, flower samples were taken from each treatment at 2, 5 and 7 days after treatments, for pollen germination and pollen tube growth determinations. In the trees, fruit set was evaluated fortnightly from the petal fall until the end of physiological drop; at harvest fruit number and size and seed presence were determined. Results confirmed that 'Abate Fetel' presents gametophytic self-incompatibility, stopping pollen tube growth in the first half of the style. For the same cultivar, treatments of self-pollinated and non-pollinated flowers resulted in 0% fruit set evaluated 30 days after the application of the treatment. Cross pollination reached 58 % ('BP1') and 76 % ('Williams precoz') of fruit set. In 'Williams', self-pollinated and non-pollinated flowers resulted in 13 % and 14 % fruit set respectively, while the cross-pollinating flowers reached 40 %.

**Keywords:** self-incompatibility, fruit set, flowering, Bartlett, pollen

## **1. INTRODUCCIÓN**

La fruticultura de hoja caduca uruguaya ocupa una superficie total efectiva de 4.633 hectáreas, contemplando las especies de manzanos, durazneros, perales, ciruelos, nectarinos y membrilleros. Los manzanos son los que ocupan la mayor superficie, 50 % del total, seguido por los durazneros 26 %, los perales 14 %, ciruelos, nectarinos y membrilleros que ocupan un 5 %, 3 %, y 3 %, respectivamente (MGAP. DIEA, 2020).

El principal destino de la producción es el abastecimiento del mercado interno, siendo que el 85 % de la fruta producida es para su consumo en fresco, un 11% se industrializa y el 4 % se exporta (MGAP. DIEA, 2020).

La producción nacional de peras fue de 11.004 toneladas para la zafra 2018-2019, de las cuales el 94 % se comercializó para consumo en fresco en el mercado interno, y un 5 % se exportó. Tomando como referencia las últimas seis zafras de este cultivo, el número de plantas en producción permaneció casi constante entre las 540 y 590 mil plantas, mientras que la producción total en el mismo período osciló entre las 13.516 y las 4.374 toneladas (MGAP. DIEA, 2020).

Dentro de los cultivares plantados en el país, el cultivar ‘Williams’, también conocido como ‘Williams Bon Chretien’ o ‘Bartlett’, representa el 82% de la superficie total, seguido por un 9 % que corresponde al cultivar ‘Packham’s Triumph’, 5 % a ‘Abate Fetel’, y en menor proporción los cultivares ‘Early Bon Chretien’ o ‘Williams Precoz’, ‘Santa Maria Morettini’ y ‘Red Bartlett’.

Como la mayoría de las especies de la familia Rosáceas, el árbol de pera europea (*Pyrus communis* L.) es una especie entomófila autoincompatible (De Franceschi et al., 2012), cuya producción de fruta se basa en la polinización cruzada entre cultivares compatibles y posterior fecundación (Monzón et al., 2004; Quinet et al., 2016, Theron et al., 2011). Sanzol, 2001, realizó un estudio de caracterización del cultivar ‘Agua de Aranjuez’, demostrando la autoincompatibilidad de este cultivar y su dependencia de la polinización cruzada para cuajar aceptablemente.

La partenocarpia es la formación de frutos sin que exista fecundación previa y se caracteriza por la ausencia de semillas. En el peral los cultivares altamente partenocárpicas son desconocidos, con la excepción de algunos cultivares de pera

Europeos, entre ellos el cultivar 'Williams' (Nyéki et al., 1998; Moriya et al., 2005; Zhang et al., 2008).

La producción de pera en el Uruguay se concentra principalmente en los departamentos de Canelones, Montevideo y San José. Como características generales, la mayor parte de las plantaciones tienen más de 25 años en producción, con un diseño de plantación que no supera las 500 plantas por hectárea, salvo excepciones de plantación nuevas que han aumentado hasta las 1500 y 2000 el número de plantas por hectárea. Estos cambios en las densidades de plantación han sido generalizados en todas las especies de frutales de hoja caduca del país, buscando eficiencia en la producción, facilitando las tareas manuales, y logrando precocidad en la entrada en producción. La actual tendencia es contar con plantas de menor vigor, haciendo un uso eficiente del recurso suelo, y mejorar la calidad y la productividad. En este sentido el peral ha quedado más relegado en este tipo de diseños de plantaciones, salvo algunas excepciones en plantaciones más jóvenes.

En referencia a los cultivares, 'Williams' es el más relevante en cuanto a superficie y producción, en general son montes monovariales que carecen de plantas polinizadoras. En cambio, el cultivar 'Abate Fetel' tiene incorporado algunos cultivares polinizadoras, pero que no sincronizan con su floración para garantizar la polinización cruzada. En general 'Abate Fetel' tiene buena adaptación a nuestro clima, teniendo todos los años una buena brotación y abundante floración, pero el cuajado es bajo, y los frutos recién cuajados caen, resultando en bajas cosechas. En cambio, el manejo de este cultivar ha sido ajustado por pocos productores que alcanzan rendimientos entre 30 y 40 toneladas por hectárea. Este manejo se basa principalmente en realizar podas cortas sobre buenas yemas de flor, la utilización de cultivares polinizadoras, la nutrición, el riego y la aplicación de reguladores de crecimiento para ayudar al cuajado de la fruta.

En lo que respecta al cultivar 'Williams' existe cierta confianza en su capacidad para producir frutos de forma partenocárpica o por autofecundación, pero se desconoce el alcance de estos procesos, y cuánto esto puede estar afectando o no, las fluctuaciones de rendimientos entre años.

En síntesis, existe escaso conocimiento generado a nivel local sobre la biología reproductiva de los cultivares de peral plantados en las condiciones de Uruguay, así como de la compatibilidad y capacidad partenocárpica en nuestras condiciones.

## **1.1. BIOLOGIA REPRODUCTIVA DEL PERAL**

### **1.1.1. Floración**

El proceso de formación del fruto en el peral comienza con la inducción floral, proceso que se lleva a cabo en el meristemo de una yema para dar lugar a la formación del primordio de una flor o de una inflorescencia. La formación de las flores se inicia durante el verano anterior a la floración, tras la detención del crecimiento de los brotes, continúa durante el reposo y, en el periodo inmediatamente anterior a la brotación, se completa y se produce la maduración de los gametos (Royo et al., 2009). Dentro de los factores que condicionan la inducción floral, la iluminación es uno de los factores que toma mayor relevancia en el peral, así como lo es el exceso de vigor de la planta. La proporción de superficie foliar expuesta a la luz es mayor en aquellos árboles con menor vigor y con sistemas de conducción que favorezcan la entrada de luz. Cuanto mayor sea el árbol y peor formado esté, la diferencia de iluminación entre zonas del árbol será mayor (Royo et al., 2009). Por otro lado, la presencia del fruto es un factor que inhibe la inducción floral, tanto por el efecto de competencia nutricional por fotoasimilados, como por su efecto en la liberación de giberelinas proveniente de las semillas presentes en el fruto (Miranda, 2010).

La síntesis de fotoasimilados y su acumulación en los brotes favorece la inducción floral, por el contrario, un crecimiento vegetativo excesivo que compite por los asimilados la disminuye. En los frutales de pepita (manzano y peral) la inducción floral se favorece cuantas más hojas haya en las brindillas y lamburdas, y su proporción este equilibrada con las ramas de madera (Miranda, 2010).

Las yemas florales, al igual que las vegetativas, sufren un proceso de latencia, en el cual van acumulando frío invernal. Cuando salen de dicha latencia y las condiciones externas son adecuadas, brotan. La fecha de brotación depende del número de horas de frío que se acumulen durante el periodo invernal y de las condiciones de la primavera: cuanto más fríos y precoces sean los inviernos, y más cálidas y precoces las primaveras, más temprana y uniforme será la brotación (Agustí, 2004).

Tras la brotación, las yemas fértiles evolucionan hacia la floración, esta suele durar alrededor de 10 días y comienza con el estado de botón verde, en el cual la flor todavía está envuelta por los sépalos. Le sigue el estado en el que las puntas de los

pétalos empiezan a asomar, y se denomina plena floración cuando alrededor del 50% de las flores están abiertas y se ven sus órganos reproductivos (Gil-Albert, 1989).

La duración de la floración depende de las condiciones climáticas y de la cantidad de yemas florales formadas. Nyéki y Soltész (1998) afirman que la duración de la floración está relacionada con la temperatura y en parte por la cantidad de flores formadas. Por lo tanto, el periodo de floración está condicionado genéticamente, pero las condiciones climáticas lo modifican sensiblemente. En este caso las altas temperaturas adelantan el curso de la floración, y las bajas temperaturas lo alargan. Si el comienzo de la floración es temprano, se alarga la duración de ésta, y si es tardío suele acortarse (Kramer et al., 1982).

La calidad de las yemas fértiles es un factor determinante de la calidad de las flores que condiciona la polinización, la fecundación y por tanto la producción de fruta. Diferentes autores han tratado de estimar la calidad de las yemas relacionándola con factores como: la superficie foliar del corimbo en plena floración (Ferree, 1989), el peso seco de las yemas, determinado al final del proceso vegetativo (Rom y Barrit, 1987) o el grosor de la lamburda donde se insertan (Miranda, 2010).

### **1.1.2. Morfología y anatomía de la flor**

La flor de peral presenta un cáliz de 5 sépalos y una corola de 5 pétalos blancos, dispuestos sobre el receptáculo alternados entre sí. Los pétalos envuelven directamente a los órganos propiamente reproductivos, el androceo y el gineceo.

El androceo es el verticilo masculino de la flor y está compuesto por los estambres. Se diferencian en el meristemo floral una vez que lo han hecho los sépalos y los pétalos. Cada estambre está formado por un filamento y por una antera, que consta de dos tecas bilobulares. En cada lóbulo de las tecas jóvenes se encuentran los sacos polínicos que contienen las micrósporas.

Los estambres rodean al gineceo, que corresponde al verticilo femenino y está formado por el estigma, el estilo y el ovario.

El estigma es la estructura de la flor específicamente preparada para la polinización y germinación del grano de polen. Está ubicado en el extremo del estilo y puede dividirse en dos zonas. Una zona superficial de tipo glandular, formada por

papilas (zona estigmática), y una zona interior no glandular, formada por células parenquimáticas (zona estigματοide), la cual envuelve los tejidos conductores, los canales estilares, y que se continúa en el estilo constituyendo la corteza (Tadeo et al., 2003).

La receptividad estigmática es la capacidad del estigma para que el polen se adhiera, se hidrate y germine. El inicio de la receptividad estigmática se acompaña de una serie de cambios, tanto en cereza dulce (Uwate y Lin, 1981) como en durazno (Herrero y Arbeloa, 1989), los cambios están mediados por la degeneración estigmática de la papila concomitantemente con la producción de secreción.

Esta secreción estigmática está relacionada con el reconocimiento y proceso de hidratación de los granos de polen, fase durante la cual el polen germina y crece el tubo polínico a expensas de sus propias reservas (Herrero, 1983).

El cese de la receptividad estigmática se ha asociado con la degeneración del estigma en albaricoque (Egea y Burgos, 1992) y ruptura de la integridad papilar en kiwi (González et al., 1995).

Cuanto mejor es la calidad de la flor, mayor es la probabilidad de cuajado, esto se debe principalmente a que son flores completas, tienen estilos más receptivos y mayor porcentaje de viabilidad de óvulos. En este sentido, dentro de un corimbo las flores completas y de mayor tamaño tienen más y mejores células y por lo tanto mayores posibilidades de ser fecundadas (Sanzol y Herrero, 2001).

### **1.1.3. Polinización y período de polinización efectiva**

La polinización es la transferencia de granos de polen de la antera al estigma. Cuando el polen es transportado al estigma de la propia flor o de una flor de la misma planta o cultivar se denomina autopolinización, y cuando es transportado al estigma de otro cultivar o especie, se denomina polinización cruzada (Frost y Soost 1968, Abrol, 2012).

Una vez que el grano de polen alcanza el estigma, se hidrata gracias a las secreciones estigmáticas y germina emitiendo el tubo polínico. El tubo polínico penetra en el estigma y desciende por el estilo hasta alcanzar los lóculos del ovario;

este recorrido del tubo polínico está marcado por una fuerte deposición de calosa (Distefano et al., 2011).

El período de polinización efectiva es la diferencia entre el tiempo de viabilidad del óvulo después de la antesis, y el tiempo necesario para que el polen germine y que el tubo polínico crezca por el estilo hasta alcanzar el óvulo (Williams, 1965). Está determinado por la receptividad del estigma, la velocidad del crecimiento del tubo polínico y la longevidad del óvulo. Condiciona la fecundación, y por lo tanto la presencia de semillas en los frutos (Mesejo, 2007).

Las condiciones climáticas juegan un papel importante en la polinización, principalmente las temperaturas y las precipitaciones durante la floración. La lluvia y el viento excesivos pueden afectar la actividad de los vectores del polen y reducir la receptibilidad estigmática. Una vez que el polen se deposita sobre el estigma, las temperaturas deben ser cálidas (15 °C - 25 °C) (Sanzol y Herrero, 2001).

La temperatura afecta la germinación del grano de polen, la tasa de crecimiento del tubo polínico y la longevidad de los óvulos, lo que resulta en una variación en el período efectivo de polinización de 1 a 9 días (Sanzol y Herrero, 2001). Sin embargo, incluso cuando todas estas condiciones son adecuadas, los perales con frecuencia no producen rendimientos adecuados.

#### **1.1.3.1. Factores que afectan la polinización**

La polinización y consiguiente fecundación puede verse afectada por factores ambientales, hormonales y nutricionales.

Dentro de los factores ambientales, la temperatura y humedad relativa son los más importantes. La temperatura puede afectar la polinización de forma indirecta a través de la eficacia de las abejas o directamente sobre la germinación de los granos de polen, crecimiento de los tubos polínicos y longevidad del óvulo (Sozzi, 2007, Agustí, 2010).

La eficacia de las abejas en el transporte de polen es máxima para una temperatura media de 20-22 °C, y prácticamente nula cuando es inferior a 12 °C. A su vez el viento y las lluvias dificultan el vuelo de las abejas, disminuyendo su eficacia como polinizadora (Agustí, 2010).

El viento fuerte causa una rápida evaporación de los extractos estigmáticos y aceleran la dehiscencia de las anteras, y disminuye la actividad de las abejas sobre todo si además las temperaturas son bajas. Según la velocidad del viento entre 15 y 20 km/h impide el vuelo de las abejas (Soltész, 1997). Los vientos secos, junto con altas temperaturas, deshidratan los estigmas. Los vientos regulares, pero de cierta intensidad, pueden ocasionar daños mecánicos en las flores y, a veces, hasta su caída.

#### **1.1.4. Biología del polen**

La germinación del grano de polen y el crecimiento del tubo a lo largo del estilo se ven favorecidos por temperaturas elevadas (25-30 °C) y reducidos o totalmente inhibidos cuando éstas son bajas (<20 °C) (Agustí, 2010).

La reducción de la viabilidad de polen a causa de las bajas temperaturas podría explicarse por el efecto negativo de éstas sobre la meiosis, que se da en esos estadios (Koltunow et al., 1995). Posiblemente dificultan el apareamiento de los cromosomas, favoreciendo la esterilidad de los gametos y la malformación del polen (Pardo et al., 2010).

Distefano et al., (2012) no observaron germinación de polen in vitro a temperaturas menores a los 10 °C, en pummelo, mandarino ‘Dancy’, citrón y Clementina.

El aumento de la temperatura, en el rango de 15 a 25 °C, fue acompañado por un aumento del porcentaje de germinación de polen, siendo el máximo a 25 °C, y disminuyendo a 30 °C.

Valores de humedad relativa bajos (<50 %) han demostrado ser negativos para la fecundación en algunas especies, al reducir la retención del grano de polen en el estigma, mientras que valores elevados (>90 %) pueden dificultar la dehiscencia de las anteras o reducir la fijación del polen en el estigma (Agustí, 2010).

### **1.1.5. Plantas polinizadoras**

En los cultivares de peral que presenten autoincompatibilidad, el uso de plantas polinizadoras debe ser indispensable para la producción de fruta, para ello estos deben estar adecuadamente distribuidos por toda la plantación.

El porcentaje de las plantas polinizadoras debe ser al menos del 10-20% del total del monte, teniendo en cuenta que son especies con polinización entomófila. En general, los perales tienen flores que resultan muy poco atractivas para las abejas, por lo que en esta especie se recomienda utilizar un número adecuado de cultivares polinizantes de manera de asegurarse la polinización cruzada (Miranda et al., 2005).

La elección de un buen cultivar polinizante debe tener en cuenta: la mayor producción de polen y con una elevada capacidad de germinación, florecer al mismo tiempo que los cultivares a polinizar y ser compatible con ellos. Es preferible que el polinizante florezca unos días antes para garantizar el polen en el momento de la apertura floral (Miranda et al., 2005).

### **1.1.6. Esterilidad y compatibilidad**

En especies que son autoincompatibles se requieren cultivares polinizadores compatibles, y con buena sincronización de sus floraciones para un cuajado exitoso. El peral es considerado de forma generalizada como una especie autoincompatible (Nyéki et al., 2000). Sin embargo, la expresión de la reacción de incompatibilidad en esta especie está muy influenciada por factores fisiológicos y ambientales (Sanzol y Herrero, 2002).

Se denomina esterilidad homogenética cuando los gametos son fértiles, sin embargo, aparecen mecanismos de incompatibilidad, asociados a sistemas de reconocimientos genético polen-pistilo, que interfieren en el desarrollo del tubo polínico impidiendo la fecundación, pudiendo ser gametofítica o esporofítica.

En el sistema de incompatibilidad gametofítico, el ritmo del crecimiento del tubo polínico es controlado por una serie de alelos múltiples que se denominan S1, S2, ..., Sn. Las células del grano de polen son haploides y tienen solo un alelo de incompatibilidad, mientras que las células del tejido estilar son diploides y poseen dos alelos. Si el alelo de incompatibilidad del polen es idéntico a uno de los dos alelos del

tejido estilar el crecimiento del tubo se retrasa y la fecundación rara vez ocurre (Poehlman y Sleper, 2003). El polen es capaz de germinar en el estigma de la flor, pero en el estilo comienzan a sintetizarse RNA-asas que penetran en el tubo polínico y descomponen su RNA, deteniendo su crecimiento (McClure et al., 1990).

En el sistema de incompatibilidad esporofítico el polen es incapaz de germinar en el estigma, dada la síntesis de enzimas quinasas que impiden su germinación (Nasrallah et al., 1998).

Gambetta et al., (2013), encontraron que la autoincompatibilidad en mandarina ‘Afourer’ (*Citrus reticulata* Blanco) es del tipo gametofítica, ya que los granos de polen germinan en su propio estigma, pero el crecimiento de los tubos polínicos se detiene en el primer tramo del estilo, en las condiciones agroclimáticas del Uruguay.

Tassinari et al., (2004) analizaron la compatibilidad genética de varios cultivares de pera europea, reportando un rango variable de incompatibilidad, mientras que ‘Abate Fetel’ resultó ser estrictamente autoincompatible.

Jacquemart et al. (2006), caracterizaron al cultivar ‘Conference’ clasificándolo como completamente autoincompatible y por lo tanto que requiere de la polinización cruzada con polen de cultivares compatibles para desarrollar frutos con semillas.

### **1.1.7. Cuajado de frutos**

El cuajado está definido en sentido estricto, como el reinicio del crecimiento del ovario, posterior a la antesis, y en un sentido amplio, es el período en el cual el fruto puede sufrir abscisión. El cuajado y desarrollo inicial del fruto depende de factores endógenos y exógenos (Gravina, 1999).

La competencia entre las flores en desarrollo, en función de su número, es uno de los factores endógenos determinantes. En la mayoría de las especies cultivadas, el bajo porcentaje de cuajado sólo se presenta con alta intensidad de floración. La planta es incapaz de nutrir a todos los ovarios que inician el desarrollo y la mayor parte de éstos abscisionan.

Las temperaturas inferiores a los 10 – 15 °C durante el periodo comprendido entre los 35 y los 40 días posteriores a la floración son limitantes para el cuajado. En este momento los pequeños frutos se encuentran en la primera fase del crecimiento inicial,

la división celular, lo que puede estimular caídas excesivas de frutos recién cuajados (Agustí, 2004; Tassinari et al., 2004).

Como medidas de manejo para mejorar el cuajado, es común la aplicación exógena de reguladores de crecimiento. Cuando las condiciones ambientales no permiten una adecuada polinización, se recurre a la utilización, entre otros, del ácido giberélico ( $GA_3$ ) para aumentar el porcentaje de cuajado en peral.

El  $GA_3$  permite aumentar el cuajado de los cultivares que normalmente producen poco y estimular la fructificación partenocárpica. En algunos casos se ha reportado que su aplicación induce deformaciones en el fruto y para que tenga una menor incidencia se recomienda hacer su tratamiento a la caída de pétalos (Agustí, 2010). Chitu et al. (2011) encontraron que concentraciones de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de  $GA_3$  dieron buenos resultados en los cultivares de peral ‘Beurré Bosc’ y ‘Triumph’, aumentando significativamente el cuajado y el peso medio de la fruta en ambos cultivares.

Otros reguladores del crecimiento utilizados son los inhibidores del etileno. Tal es el caso del AVG (aminoetoxivinilglicina), que ha mostrado buenos resultados en la mejora del cuajado. El etileno está involucrado en la senescencia y abscisión de flores y frutos jóvenes (Greene, 1980). Por tanto, la aplicación de inhibidores de síntesis de etileno, como AVG podría ser una potencial herramienta para reducir la caída de frutos y aumentar el cuajado de las peras.

Dussi (2011), Sánchez, et al., (2011) encontraron mejoras significativas del porcentaje de cuajado en cultivares ‘Packham’s Triumph’ y ‘Abate Fetel’ con aplicaciones de AVG a una dosis de  $250 \text{ mg L}^{-1}$ , que, aplicadas dos semanas después de plena flor, incrementaron el cuajado y el rendimiento en ambos cultivares.

### **1.1.8. Partenocarpia**

La partenocarpia es la formación de frutos sin que exista fecundación previa y se caracteriza por la ausencia de semillas. Puede clasificarse en partenocarpia autónoma o vegetativa, cuando no requiere el estímulo de la polinización para producir fruta, y estimulativa cuando sí lo requiere.

La partenocarpia autónoma o vegetativa es muy deseable en los cultivares ya que evita, no solo la necesidad de polinización manual o de insectos polinizadores,

sino también de los estímulos físicos o químicos requeridos para la polinización o aplicación de hormonas vegetales. La estenospermocarpia, es el desarrollo de frutos con semillas parcialmente formadas, debido al aborto de los embriones luego de la fecundación (Vardi et al., 2008).

Los cultivares altamente partenocárpicos son desconocidos entre los perales, con la excepción de algunos cultivares de pera europeos (Nyéki et al., 1998; Moriya et al., 2005; Zhang et al., 2008).

Mesejo et al. (2013) demostraron que la partenocarpia en dos variedades de Clementinas ('Marisol' y 'Clemenules'), es independiente del estímulo de la polinización y su habilidad de cuajar depende de los niveles hormonales en el ovario. Esto último coincide con estudios anteriores que demuestran que el cuajado de frutos partenocárpicos está asociado a altos niveles endógenos de auxinas y giberelinas en el ovario (Vardi et al., 2008).

La partenocarpia en cualquier cultivo frutal es un rasgo muy deseable porque tiene la posibilidad de reducir muchos de los problemas asociados con la polinización. En un cultivo autoincompatible la partenocarpia podría solucionar al menos dos de los factores que disminuyen la polinización cruzada. Por un lado, las condiciones climáticas subóptimas para la polinización, y por otro, la baja presencia de insectos polinizadores (Sanzol, 2001).

Varios autores han investigado la partenocarpia natural en el peral (Nyéki et al., 1998; Moriya et al., 2005), pero poco se sabe sobre los recursos genéticos que la sostiene. A su vez, la partenocarpia a menudo se ve afectada por condiciones fisiológicas y ambientales, dentro del mismo cultivar (Moriya et al., 2005).

### **1.1.9. Crecimiento del fruto**

El crecimiento del fruto que resulta de la división y alargamiento celular sigue un modelo representado por una curva sigmoide. Ésta presenta tres fases bien definidas: la fase I o período de crecimiento exponencial (división celular), la fase II o período de crecimiento lineal (agrandamiento y expansión celular) y la fase III que incluye la etapa final del crecimiento y el período de maduración.

Cuando el tiempo es medido en días después de la plena floración (DPF), la fase I de multiplicación celular se extiende hasta los 40-60 DPF. Posteriormente, en la fase II se produce la expansión celular con el incremento significativo de tamaño. Esta fase tiene una duración aproximada de 65-70 días. A partir de ese momento se desencadenan en el fruto una serie de transformaciones bioquímicas que conducen al desarrollo de las características organolépticas de la variedad. Esta última suele durar de 10 a 30 días.

#### **1.1.9.1. Factores que afectan el crecimiento del fruto**

El número de células definido en la primera fase de crecimiento determinará el tamaño potencial del fruto. La cantidad de células en el pequeño fruto está regulada por sustancias hormonales y es afectada por la disponibilidad de agua y la capacidad de asimilar carbohidratos y nutrientes.

Dentro de los factores endógenos que afectan el crecimiento del fruto la disponibilidad de carbohidratos es uno de los más importantes y depende de la superficie foliar y de su capacidad fotosintética. Los frutos actúan como destino para estas sustancias y con frecuencia se produce competencia entre ellos. Un alto número de frutos por planta en general conlleva a tamaños menores de fruto.

Otro de los factores que se ha estudiado como promotor del crecimiento del fruto en variedades autoincompatibles, es la presencia de semillas producto de la polinización cruzada. Chao et al., (2005) afirma que existe una correlación positiva entre el diámetro y número de semillas por fruto. Pardo et al., (2010) encontraron una mayor proporción de frutos de mandarina 'Afourer' con 0 a 1 semilla en los diámetros menores a 60 mm, que en aquellos entre 60-70 mm y mayores a 70 mm. En estos últimos rangos, la mayoría de los frutos presentaba más de 3 semillas, lo que deja en evidencia la importancia de éstas, probablemente a través de los factores hormonales, en el desarrollo del fruto.

Dentro de los factores exógenos el crecimiento de los frutos puede verse limitado por el suministro de agua y nutrientes y por otros factores que afectan la fotosíntesis, como la baja temperatura y la nubosidad. El suministro de agua en cantidades insuficientes provoca reducción del tamaño final del fruto, mientras que

riegos con cierta frecuencia logran aumentarlo significativamente (Agustí, et al., 2003). Las deficiencias en elementos minerales alteran el desarrollo de las plantas en un sentido amplio, por lo que el crecimiento del fruto también puede verse afectado. El efecto de estas deficiencias sobre el tamaño y calidad del fruto, son variables, y depende del elemento mineral en cuestión y del momento en que ocurra.

## **1.2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

En las condiciones agroclimáticas del sur del Uruguay, el cultivo de pera no logra los rendimientos potenciales para la especie y esta situación se debe a varios factores. Uno de los factores es el comportamiento productivo que ha tenido el cultivar ‘Williams’, quien representa el 88 % de la superficie total del cultivo de pera en el país. Si tomamos como ejemplo las últimas seis zafas del cultivo, la producción del cultivar ‘Williams’ osciló entre las 21 y las 6 toneladas por hectárea. En este caso la disminución significativa del rendimiento se debe a las condiciones climáticas desfavorables para el cultivo, en especial en años donde los inviernos son cálidos, y el cultivar no logra cumplir con su requerimiento de frío invernal, comprometiendo así su producción. Si bien existen numerosos factores que pueden estar explicando que la media nacional de producción de pera en el sur del país no supere las 17 toneladas por hectárea, teniendo potencial para producir entre 30 y 40 toneladas por hectárea, consideramos que los aspectos relacionados a la biología reproductiva de esta especie pueden aportar a disminuir estas brechas de rendimiento.

Para se plantean tres hipótesis de trabajo:

- Los cultivares de pera plantados en Uruguay son autoincompatibles.
- En las condiciones del sur del Uruguay los cultivares de pera presentan baja capacidad partenocárpica.
- En los cultivares de pera plantados en Uruguay la polinización cruzada incrementa el cuajado final de frutos.

Para confirmar o refutar las hipótesis se plantea como objetivo general estudiar algunas de las variables relacionadas a la polinización y al cuajado que pueden estar afectando la producción de pera en el sur del Uruguay. Para ello se plantean tres objetivos específicos:

- Estudiar la compatibilidad genética de los cultivares ‘Williams’ y ‘Abate Fetel’.
- Evaluar la capacidad partenocárpica de ambos cultivares en nuestras condiciones.
- Determinar el porcentaje de cuajado, tamaño de frutos y presencia de semillas en condiciones de autopolinización, aislación y polinización cruzada.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

Los experimentos se realizaron en la Estación Experimental ‘Wilson Ferreira Aldunate’ del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) en la localidad de El Colorado, departamento de Canelones (-34.67 S, -56.34 O). Se utilizaron plantas del cultivar ‘Williams’ sobre el portainjerto OHxF333 (*Pyrus sp.*), y plantas del cultivar ‘Abate Fetel’ injertadas en sobre el portainjerto membrillero Adams. Ambos portainjertos confieren menor vigor de planta. Los árboles se mantuvieron en condiciones de riego, fertilización y poda acorde a los requerimientos del cultivar, y se realizó un manejo integrado de plagas y enfermedades. Los ensayos fueron realizados durante tres temporadas, el cultivar ‘Abate Fetel’ fue estudiado en el ciclo del cultivo 2014-2015, y en el cultivar ‘Williams’ se analizaron dos ciclos de cultivos sucesivos 2015-2016 y 2016-2017. La repetición de los estudios en el cultivar ‘Williams’ se debió a que las condiciones climáticas impidieron completar los experimentos en el ciclo 2015-2016.

### **2.1. EVALUACIONES EN CAMPO**

#### **2.1.1. Estudio de autocompatibilidad y capacidad partenocárpica**

Para determinar la capacidad partenocárpica y la autocompatibilidad, en ambos cultivares se marcaron 120 flores en estado fenológico F1 (Fleckinger, 1965). Sesenta flores de cada cultivar fueron embolsadas con malla anti-insectos, de manera de evitar la polinización con otro cultivar. En las restantes 60 flores de cada cultivar se quitaron las anteras manualmente con pinza (emasculación), y se colocó malla anti-insectos para impedir la llegada de polen foráneo (Figura 1). En todos los tratamientos las mallas se quitaron una vez cuajado el fruto. Los ensayos se realizaron en la primavera del año 2014 para el cultivar ‘Abate Fetel’, y en el cultivar ‘Williams’ los ensayos se realizaron en la primavera de los años 2015 y 2016.

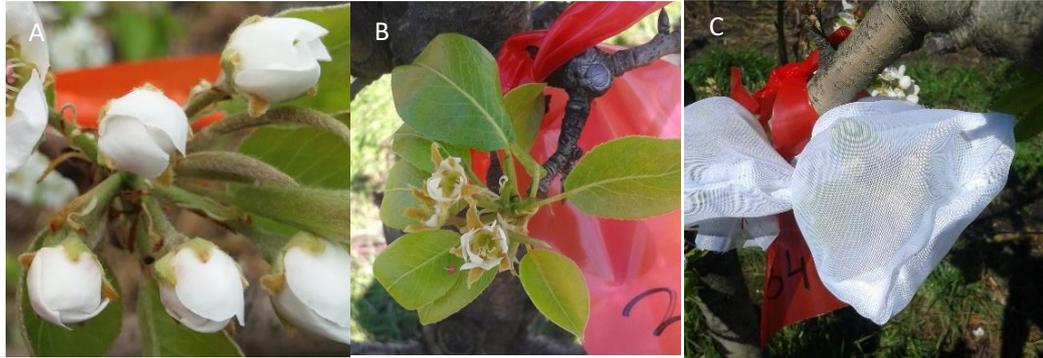


Figura 1. Polinizaciones manuales en flores de peral. Selección de flores en estado F1 (A), flores emasculadas (B), y flores embolsadas para evitar la llegada de insectos polinizadores al estigma (C).

### **2.1.2. Polinizaciones dirigidas**

Para el estudio de la polinización cruzada se marcaron en la primavera del año 2014, 120 flores en el cultivar ‘Abate Fetel’, de las cuales 60 fueron emasculadas, polinizadas manualmente con polen del cultivar ‘Williams precoz’, y embolsadas con malla anti-insectos. Las restantes 60 flores fueron emasculadas, polinizadas con polen de BP1 (*Pyrus communis*) cultivar utilizado como portainjerto, y embolsadas.

En el cultivar ‘Williams’ en dos primaveras consecutivas (2015 y 2016) se marcaron 60 flores las cuales fueron emasculadas, polinizadas manualmente con polen de ‘Packham's Triumph’ y embolsadas.

En todos los casos las anteras maduras se colectaron 24 horas antes de la polinización, y se pusieron bajo luz artificial en placas de Petri. Luego de la dehiscencia de éstas y la liberación del polen, éste se colectó y se procedió a polinizar utilizando un pincel.

La elección de las variedades utilizadas como polinizadores se realizó en base a la sincronización en las floraciones, según datos de la Estación Experimental INIA Las Brujas. En todos los tratamientos las mallas se quitaron una vez cuajado el fruto.

### **2.1.3. Mediciones en campo y cosecha**

A partir de la caída de pétalos y hasta cosecha se evaluó, cada 15 días, la presencia o ausencia de los frutos en relación con las flores marcadas inicialmente.

En cosecha se contabilizó número de frutos finales, se tomó el peso y el diámetro ecuatorial de los frutos, y se contabilizó la presencia de semillas y número de semillas maduras y rudimentos seminales por fruto.

El porcentaje de cuajado se analizó estadísticamente con un modelo lineal generalizado en el programa estadístico INFOSTAT (versión 2013) interfase con R (versión 3.0.1), y se utilizó el test DGC para la separación de medias. El diámetro, el peso y el largo del fruto se analizaron mediante un análisis de varianza, y la separación de medias se hizo por test de Tukey.

## **2.2. ANÁLISIS DE LABORATORIO**

### **2.2.1. Análisis microscópico de flores**

Para la determinación in vivo de la germinación del grano de polen, crecimiento del tubo polínico y viabilidad de óvulos mediante el uso de microscopio de fluorescencia (Dumas y Knox, 1983), se marcaron 15 flores de cada tratamiento (autopolinización, emasculación, y polinización cruzada) por cultivar. En ‘Abate Fetel’ los muestreos se realizaron en el año 2014 y en ‘Williams’ en el año 2016. A partir de las polinizaciones, se muestrearon 5 flores por tratamiento, a los 2, 5 y 7 días pos-antesis. Las flores se fijaron en FAA (5 % formol aldehído, 5 % ácido acético, 90 % etanol al 70 %) por 48 horas y luego se pasaron a solución de etanol al 70% para su conservación. Posteriormente el tejido fue teñido con una solución de azul de anilina, que iluminada con luz ultravioleta emite fluorescencia.

Los granos de polen se consideraron germinados cuando el largo del tubo superaba el diámetro del grano de polen. El crecimiento del tubo polínico en el estilo se determinó, como el porcentaje de longitud recorrido por el tubo polínico más largo. La viabilidad de los óvulos se determinó contando los óvulos viables del total rescatado del ovario analizado. Se consideró viable cuando no presentaba fluorescencia en la zona de la chalaza, indicando que no existía depósito de calosa en dicha zona.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE FLORES

##### 3.1.1 Germinación de polen ‘in vivo’

El porcentaje promedio de germinación de granos de polen *in vivo* superó el 76% (Cuadro 1) en todos los cultivares utilizados, tanto para autopolinizaciones como para las polinizaciones cruzadas. Este resultado coincide con lo reportado por Zhang et al., (2008), en donde el porcentaje de germinación *in vivo* cultivares de *Pyrus pirifolia* alcanzó el 60%.

Cuadro 1. Promedio del porcentaje de germinación de polen *in vivo* en el estigma de flores de peral de los cultivares ‘Abate Fetel’ en el año 2014 y ‘Williams’ en el año 2016, según tratamiento.

Cultivar	Tratamiento	Porcentaje medio de germinación
‘Abate Fetel’	Autopolinizada	82 a <sup>z</sup>
	Polinizada con BP1	78 a
	Polinizada con ‘Williams precoz’	85 a
‘Williams’	Autopolinizada	76 a
	Polinizada con ‘Packham’s Triumph’	87 a

<sup>z</sup> Medias seguidas por distinta letra dentro de la columna difieren estadísticamente ( $p \leq 0,05$ )

Los resultados muestran que la capacidad de germinación del polen utilizado no fue una limitante en esta primera etapa del proceso reproductivo. Se puede decir que, en las condiciones de este ensayo en los años 2014 y 2016, dos días fueron suficientes para que los granos de polen germinaran, y los tubos polínicos comenzaran su recorrido por el estilo (Figura 2). En las flores que fueron emasculadas se constató la ausencia de polen, confirmando que la malla funcionó evitando la llegada de polen foráneo.

Estos datos coinciden con lo reportado por Kuroki et al., (2016), en donde evaluaron el porcentaje de germinación de polen *in vitro* de varios cultivares de peral, entre ellos el cultivar 'Williams'. Los granos de polen eran colocados en placas de Petri con medio de cultivo favorable y llevados a cámara de crecimiento a diferentes temperaturas. Los resultados mostraron que la germinación de polen variaba según la temperatura, cuando los granos de polen se incubaron por 5 horas a 12 °C el porcentaje de germinación fue 35 %, y la germinación fue máxima a temperaturas entre los 17 °C y los 20 °C, con porcentajes de germinación de 88 %. Por el contrario, con valores de temperatura de 7,5 °C el porcentaje de germinación fue de 0 %, y cuando la temperatura aumento a 10 ° C el porcentaje de germinación fue de 8,5 % (Kuroki et al., 2016).

Tomando en cuenta los datos de temperatura media (Anexo 1) de la primavera en nuestras condiciones para los años de estudio, este no fue un factor que limitara la germinación de los granos de polen en el estigma de las flores. Sin embargo, no se descarta la posibilidad de que en primaveras en donde se registren bajas temperaturas, menores a 12° C por varios días, este factor pueda ser limitante y afectar el proceso de germinación del polen en el peral.

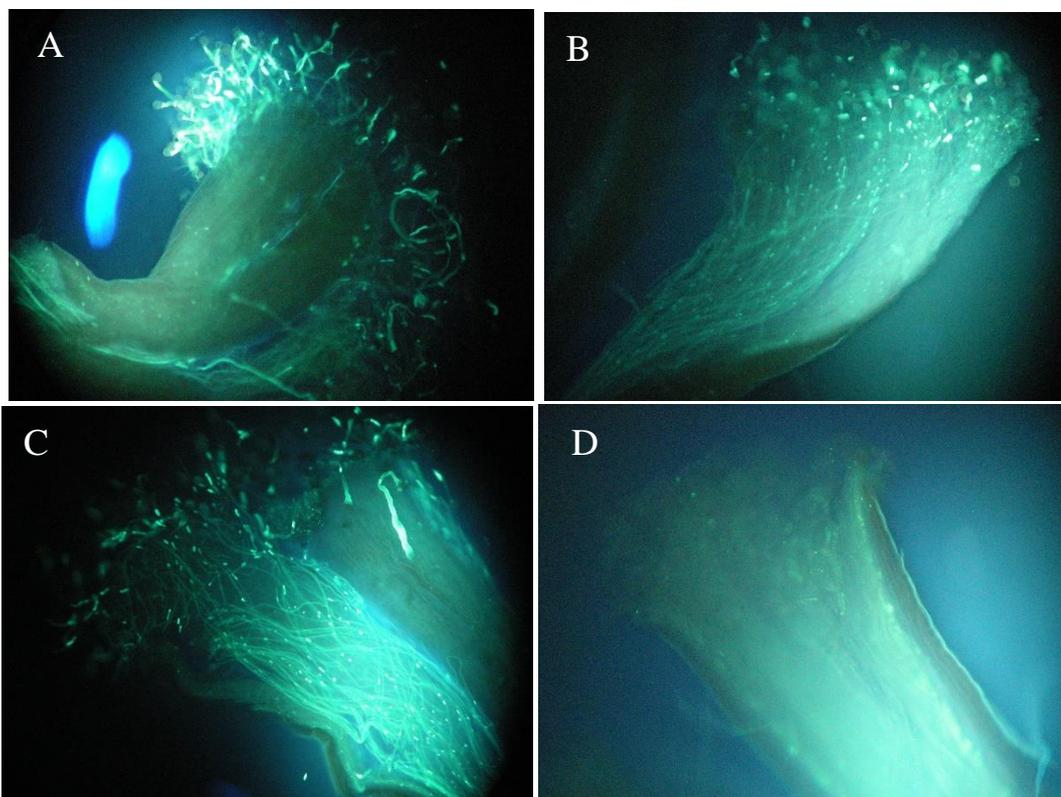


Figura 2. Imágenes del estigma de flores de ‘Abate Fetel’ en condiciones de autopolinización (A), polinizadas con polen de ‘Williams precoz’ (B), y polinizadas con polen de ‘BP1’ (C), flores emasculadas (D) a los 2 días pos polinización, obtenidas con microscopio de fluorescencia.

Datos similares de porcentaje de germinación de polen utilizando la misma técnica de este trabajo se dan en otras especies, Distefano et al., (2009) encontraron en cultivares de cítricos 75 % de germinación de granos de polen de ‘Fortune’ en el estigma de ‘Nova’ (2 días después de polinizados) y más de 100 tubos polínicos alcanzaron la parte superior del estilo (Distefano et al., 2011).

Mesejo et al., (2007) también encontraron que los granos de polen de mandarina ‘Fortune’ germinaron en estigmas de ‘Clementina de Nules’, Satsuma ‘Owari’ y naranja dulce ‘Valencia’, y alcanzaron los canales estilares 2 días después de polinizados en antesis.

### 3.1.2 Crecimiento del tubo polínico

A partir de la primera fecha de muestreo y hasta los 5 días pos-polinización, se encontraron tubos polínicos creciendo a través del estilo en todas las flores observadas, independientemente del polen utilizado en ambos cultivares. Esto coincide con lo estudiado por Wang et al., (2017), en donde los tubos polínicos de varios cultivares de pera llegaban hasta la base del estilo en 72 horas después de la polinización.

Los resultados muestran que el cultivar ‘Abate Fetel’ no presentó reacción de incompatibilidad genética cuando fue polinizada con polen del cultivar ‘Williams precoz’ (Figura 3) y con el polen del portainjerto ‘BP1’, observándose que los tubos polínicos crecieron sin interrupción hasta la base del estilo a los 5 días pos-polinización.



Figura 3. Imágenes del crecimiento del tubo polínico de ‘Williams precoz’ en el tercio superior (A), medio (B) e inferior (C) del estilo de ‘Abate Fetel’ a los 5 días pos-polinización, obtenidas en microscopio de fluorescencia.

Se puede decir que en nuestras condiciones ambos polinizadores fueron compatibles genéticamente con el cultivar ‘Abate Fetel’ y dado que tienen un periodo de floración superpuesto, podrían utilizarse como cultivares polinizadores a escala comercial.

En cambio, cuando ‘Abate Fetel’ fue autopolinizada presentó una típica reacción de incompatibilidad genética. Al observar el crecimiento de su propio tubo polínico éste detiene su crecimiento entre el primer y segundo tercio del estilo, lo que infiere una reacción de incompatibilidad de tipo gametofítica (Figura 4). Esta reacción de incompatibilidad es típica de los frutales, en donde el polen es capaz de germinar en

el estigma de la flor, pero en el estilo comienzan a sintetizarse RNA-asas que penetran en el tubo polínico y descomponen su RNA, deteniendo su crecimiento (McClure et al., 1990). El peral esta reportado como una especie autoincompatible dentro de la familia Rosáceas, ya que su polen puede germinar en el estigma, pero es detenido en su estilo (Heng et al., 2008, Qi et al., 2011).



Figura 4. Imágenes del crecimiento del tubo polínico en el tercio superior (A), medio (B) e inferior (C) de flores de ‘Abate Fetel’ autopolinizadas a los 5 días post-polinización, obtenidas bajo microscopio de fluorescencia.

Este resultado coincide con Tassinari et al., (2004) en donde analizaron la compatibilidad genética de varios cultivares de pera europea, reportando un rango variable de incompatibilidad, mientras que ‘Abate Fetel’ resultó ser estrictamente autoincompatible. La reacción de incompatibilidad encontrada en ‘Abate Fetel’ no es la única reportada dentro de los perales, Jacquemart et al., (2006), caracterizaron al cultivar ‘Conference’ clasificándolo como completamente autoincompatible y por lo tanto requiere de la polinización cruzada con polen de cultivares compatibles para desarrollar frutos con semillas.

Al analizar las flores del cultivar ‘Williams’, se observó que los tubos polínicos no se detenían en ningún tramo del estilo, llegando hasta la base de éste a los 5 días después de la polinización. En este sentido no se encontró reacción de incompatibilidad ni en las flores autopolinizadas (Figura 5), ni en las flores polinizadas con polen de ‘Packham’s Triumph’.

Wang et al., (2017) clasificaron el grado de incompatibilidad luego de analizar 127 cultivares de peral, proponiendo tres niveles de incompatibilidad según el

recorrido del tubo polínico por el estilo. Consideraron incompatibilidad fuerte, cuando el tubo polínico no era capaz de avanzar más allá del 1/3 del estilo, intermedia cuando avanzaba de 1/3 a 2/3 y débil cuando avanzaba de 2/3 a 1 del largo del estilo. Otros autores plantean que las diferencias en el recorrido del tubo por el estilo se deben a diferencias en el contenido de la glicoproteína S en los estilos propios entre los cultivares de pera (Shaoling et al., 2002).

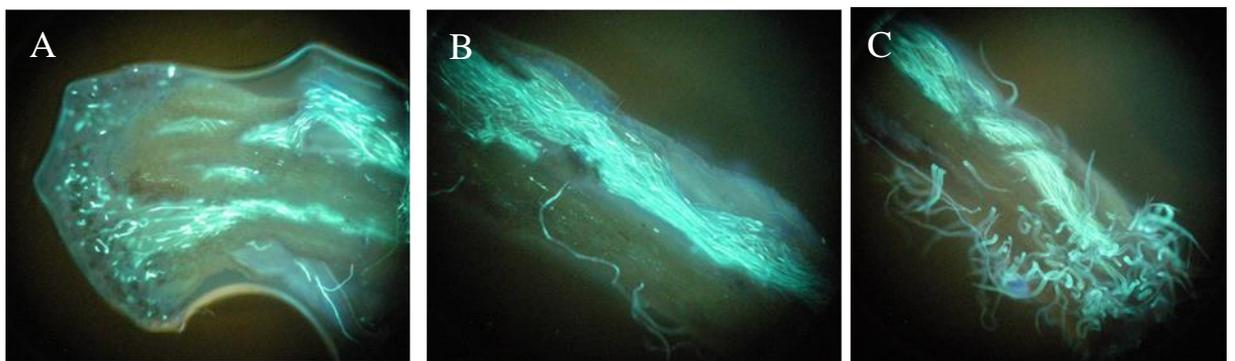


Figura 5. Imágenes de crecimiento del tubo polínico en el tercio superior del estilo (A), medio (B) e inferior (C), en flores del cultivar ‘Williams’ autopolinizadas, a los 5 días pos-polinización, obtenidas en microscopio de fluorescencia.

Sanzol (2001) reportaba que en flores autopolinizadas del cultivar ‘Agua de Aranjuez’ los estigmas tenían abundante cantidad de granos de polen germinados, y los tubos polínicos crecían en la primera mitad del estilo, donde la mayoría detenía su crecimiento presentando una típica reacción de autoincompatibilidad. Por el contrario, los mismos autores en el mismo cultivar analizan el cruzamiento de ‘Agua de Aranjuez’ con el cultivar ‘Castell’, y encontraron que los tubos polínicos alcanzaron la base de estilo y un 47% de los óvulos presentaban tubos polínicos en la nucela, teniendo el 100% de las flores al menos un óvulo fecundado (Sanzol, 2001).

En las flores de ‘Williams’ analizadas en esta tesis no se observó tubos ingresando en la nucela, pero en todos los casos los tubos crecieron hasta la base del estilo. Si hubiésemos analizado flores con mayor número de días pos-polinización posiblemente encontraríamos tubos polínicos en la nucela. Si bien en nuestro

experimento no era el objetivo medir la expresión de S-RNasa ni su abundancia en el estilo, varios autores (Hiratsuka y Zhang, 2002, Luu et al., 2000, Goldraij et al., 2006) la correlacionan con el grado de autoincompatibilidad de los cultivares. Los mismos indican que las S-RNasas entrarían al tubo polínico ya sea proveniente de autopolinización o polinización cruzada, lo que indica que el proceso de auto reconocimiento se daría dentro del tubo polínico. Como hipótesis, plantean que habría mecanismos dentro del tubo polínico para inhibir la actividad de las S-RNasas de un genotipo diferente, pero no para las S-RNasas del propio genotipo.

Según la bibliografía y con los resultados obtenidos el cultivar ‘Williams’ entraría dentro de la clasificación de cultivar con incompatibilidad débil.

### **3.1.3 Viabilidad de los óvulos**

En ambos cultivares la viabilidad de óvulos estuvo en el 100 % hasta los 5 días pos-polinización. A partir del día 7, se comenzó a observar síntomas de degeneración de los óvulos, con lo cual el porcentaje de viabilidad disminuyó en promedio en ambos cultivares a un 70 %.

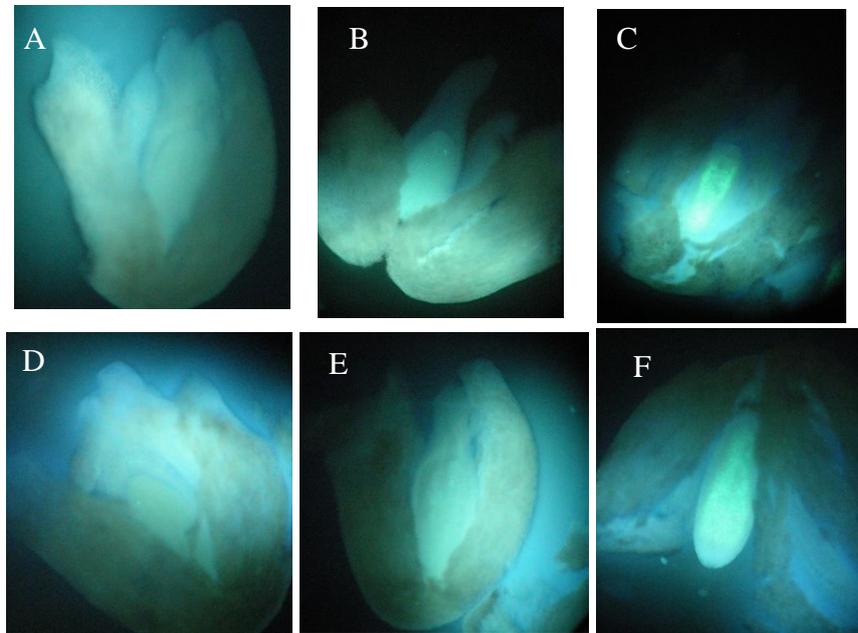


Figura 6. Viabilidad de óvulos determinada en microscopio de fluorescencia en flores de ‘Abate Fetel’ a los 2, 5 y 7 días pos polinización (A, B y C respectivamente) y de ‘Williams’ a los 2, 5 y 7 días pos polinización (D, E y F respectivamente). Nótese la fluorescencia de callosa, que representa pérdida de viabilidad, en los óvulos de ambos cultivares, correspondientes al día 7 pos-polinización (C y F).

Estos resultados coinciden con lo reportado por Cerovic et al., (2020), quienes encontraron que en los cultivares de peral ‘Ingeborg’ y ‘Celina’, los óvulos degenerados aumentaron progresivamente al sexto día después de floración y fueron muy numerosos al duodécimo día. En ambos cultivares el periodo de tiempo en el que la mayoría de los óvulos permanecen viables, sería suficiente para que los tubos polínicos recorrieran la totalidad del estilo y llegaran a fecundarlo.

Sanzol y Herrero (2001) reportan que un período de vida corto de los óvulos es un factor importante que limita el periodo de polinización efectiva en un cultivar. En este sentido las bajas temperaturas durante la floración ralentizan la tasa de crecimiento del tubo polínico, pero extienden el periodo de polinización efectiva a través de un efecto de prolongación de la vida de los óvulos. Sin embargo, las temperaturas extremadamente bajas pueden acortar el periodo de polinización efectiva si la

longevidad del óvulo no supera la tasa de crecimiento más lenta de los tubos polínicos. Por el contrario, las altas temperaturas, mientras aumentan la tasa de crecimiento del tubo polínico, acortan el periodo de polinización efectiva al reducirse tanto la receptividad del estigma como la viabilidad de los óvulos (Sanzol y Herrero, 2001).

Por lo tanto, aunque la temperatura afecta claramente el periodo efectivo de polinización, parece que en nuestras condiciones se alcanzaría un equilibrio entre la receptividad del estigma, el crecimiento del tubo polínico y la viabilidad del óvulo que permite que la polinización ocurra sin mayores limitantes. En este sentido la viabilidad de los óvulos en las condiciones de este estudio no estaría siendo un factor que limite el período de polinización efectiva en el peral.

## **3.2. EVALUACIONES DE CAMPO**

### **3.2.1. Evolución de la abscisión y porcentaje de cuajado final**

Los cultivares estudiados presentaron diferente respuesta según el tratamiento. Las flores del cultivar ‘Abate Fetel’ que fueron emasculadas y las autopolinizadas abscisionaron en su totalidad a los 27 días pos-tratamiento (Figura 7). Este resultado concuerda con la autoincompatibilidad de tipo gametofítico, determinada a nivel microscópico. La incapacidad de mantener frutos en condiciones de autopolinización o emasculación en el año de estudio, indica que no presentó capacidad partenocárpica, tanto con estímulo de polen como sin estímulo de polen.

Por el contrario, las flores que fueron polinizadas manualmente con polen de ‘Williams precoz’ y del portainjerto ‘BP1’ alcanzaron porcentajes de cuajado final de 76 y 57% respectivamente. El cuajado en general fue alto en las flores que fueron polinizadas manualmente, si comparamos con lo encontrado por Sánchez et al., (2011), en donde reporta porcentajes de cuajado del 22% en ‘Abate Fetel’ en las condiciones agroclimáticas de la provincia de Río Negro, Argentina, con aplicaciones combinadas de auxinas y giberelinas. Cabe destacar que comercialmente en montes de este cultivar se utilizan reguladores de crecimiento para aumentar su cuajado.

Cuadro 1. Evolución del porcentaje de caída de frutos del cultivar ‘Abate Fetel’ provenientes de flores con diferentes tratamientos de polinización, desde la polinización hasta 70 días después.

Tratamiento	0	22	27	44	70
Autopolinizada	100 ns	3,4 b <sup>z</sup>	0 b	0 b	0 b
Sin polinizar	100	0 c	0 b	0 b	0 b
Polinizada con 'Williams precoz'	100	97,2 a	90,9 a	79,6 a	76,5 a
Polinizada con 'BP1'	100	76,4 a	68,8 a	64,6 a	57,6 a

<sup>z</sup> Medias seguidas por distinta letra dentro de cada columna difieren estadísticamente ( $p \leq 0,05$ )

Según los resultados, ‘Abate Fetel’ en nuestras condiciones sería dependiente de polen de un cultivar compatible para producir fruta, como fue reportado para el cultivar ‘Conference’, clasificado como completamente autoincompatible (Jacquemart et al., 2006). Para el año de estudio los cultivares ‘Williams precoz’ y ‘BP1’ resultaron ser buenos polinizadores. Al igual que lo citado para el cultivar ‘Conference’ las condiciones climáticas adversas en el periodo de floración podrían reducir la polinización por insectos, lo que podría requerir en este caso la práctica de manejo de aplicación de fitohormonas, principalmente giberelinas para inducir el cuajado partenocárpico (Jacquemart et al., 2006).



Figura 8. Frutos de pera ‘Abate Fetel’ provenientes de flores polinizadas con ‘Williams precoz’.

En el cultivar ‘Williams’ la polinización cruzada aumentó significativamente el porcentaje de cuajado de frutos en los dos años estudiados. Las flores que fueron autopolinizadas y emasculadas lograron cuajar un 14 % y 13 % respectivamente si tomamos como referencia el año 2016, y el tratamiento de polinización cruzada alcanzó un cuajado de 40% (Cuadro 2). Resultados similares reportó Nishitani et al., (2012), comparando 31 genotipos de peral, en los cuales analizó la autopolinización, la aislación (sin polen) y la polinización cruzada. En todos los cultivares la polinización cruzada presentó porcentajes de cuajado superiores al 30 %, mientras que, los grupos de flores autopolinizadas y sin polinizar no se diferenciaron significativamente entre ellas con porcentajes de cuajado inferiores a los de la polinización cruzada. En este mismo experimento, el grupo de flores del cultivar ‘Williams’ que fueron autopolinizadas tuvieron un porcentaje de cuajado del 19 %, mientras que las flores sin polinizar y las flores de polinización cruzada obtuvieron porcentajes de cuajado del 39 % y 90 %, respectivamente.

Cuadro 2. Porcentaje de cuajado final de frutos en cultivar ‘Williams’ provenientes de flores con diferentes tratamientos de polinización, en los dos años de estudio.

Año	Polinizada con		
	‘Packham’s Triumph’	Autopolinizada	Emasculada
2015	25,58 a <sup>z</sup>	7,5 b	7,89 b
2016	40,38 a	14,23 b	13,33 b

<sup>z</sup> Medias seguidas por distinta letra dentro de cada fila difieren estadísticamente ( $p \leq 0,05$ )

En nuestras condiciones de estudio, en ambos años, el porcentaje de cuajado de flores sin polinizar (emasculadas) y autopolinizadas fue muy similar. Esto coincide con Moriya et al., (2005) quienes reportaron en varios cultivares de pera europea, entre ellos ‘Williams’, que no se obtuvo diferencias entre el cuajado de fruta proveniente de flores sin polinizar y autopolinizadas, o incluso en algunos años el cuajado de frutos sin polinizar fue mayor que el autopolinizado, sugiriendo que la partenocarpia podría ser de tipo autónoma y/o estimulativa dependiendo de las condiciones del año. La capacidad partenocárpica del cultivar ‘Williams’ ya había sido reportada por Griggs y Iwakiri en el año 1954 para las condiciones agroclimáticas de California, y Ravaglia (1991) confirmaba que la capacidad partenocárpica de ‘Williams’ era consistente cuando las condiciones climáticas eran desfavorables y limitantes para la polinización.

Esta propiedad de ‘Williams’ probablemente contribuye a la mejor adaptabilidad y constancia en la producción. Sin embargo, los mismos autores plantean que el cuajado solamente partenocárpico no sería suficientemente confiable para permitir producciones altas y estables durante los años. Por lo cual recomiendan la implantación de montes de ‘Williams’ asociados a otras variedades polinizadoras como ‘Decana del Comizio’, ‘Conference’ y ‘Packham’s Triumph’ entre otras (Ravaglia, 1991).

Sanzol, (2001) encontró que en el cultivar ‘Agua de Aranjuez’ la polinización cruzada aumentó significativamente el cuajado en tres años consecutivos, alcanzando

valores de 75 %, mientras que en el mismo cultivar la autopolinización tuvo variaciones entre años oscilando entre 3 y 28 % de cuajado. La diferencia de cuajado entre los frutos de polinización cruzada y los sin polinizar y autopolinizados, podría estar explicada por variaciones en el contenido hormonal en los ovarios en desarrollo. Las giberelinas y citoquininas son consideradas reguladores de crecimiento favorables al desarrollo del fruto. Las giberelinas han sido reportadas como promotoras del cuajado, tanto en variedades con semillas donde éstas son el principal sitio de síntesis, como en las variedades de alto índice partenocárpico en las cuales son las paredes del ovario las que cumplen esta función (Sanzol et al., 2007). La capacidad de fosa de los frutos con semillas es mayor a la de los frutos partenocárpico, explicado principalmente por un mayor contenido endógeno de giberelinas (Talón et al., 1992).

Si sólo se consideran los resultados del año 2015, el cuajado fue menor en todos los tratamientos. La baja acumulación de frío (Figura 9), que conlleva a una menor calidad de la flor, limitando de esta manera el proceso de fructificación. Esta variable climática afectó severamente al cultivar ‘Williams’, que ha tenido un comportamiento productivo errático, correlacionado directamente con la falta de horas de frío para cubrir su requerimiento.

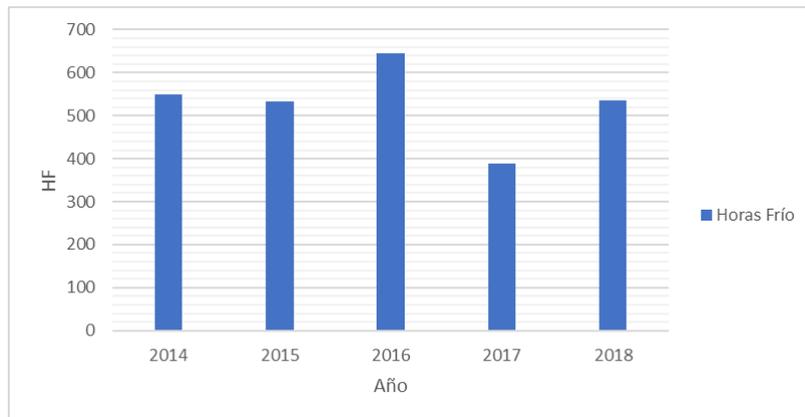


Figura 9. Horas de frío calculadas con el método Weinberger, considerando temperaturas  $\leq 7,2$  ° C registrada en la Estación Experimental INIA Las Brujas, Canelones.

### **3.2.2. Tamaño de fruto y presencia de semillas**

En el cultivar ‘Abate Fetel’ los frutos provenientes de los tratamientos de polinización cruzada, que fueron los únicos que llegaron a la madurez, presentaron similares valores de diámetro, largo y peso, no diferenciándose estadísticamente. Con respecto a la presencia de semillas en los frutos, el 75 % de los provenientes de la polinización cruzada con el cultivar ‘Williams precoz’ presentaron semillas maduras, mientras que en los provenientes del cruzamiento con ‘BP1’ el porcentaje fue de 86 % (Cuadro 3, Figura 10). Con ambos polinizantes el 100 % de los frutos de ‘Abate Fetel’ cosechados presentaron además rudimentos seminales. Esto indica que existió la fecundación, pero por alguna razón o mecanismo el embrión no prosperó.

Cuadro 3. Tamaño de frutos y presencia de semillas en cultivar ‘Abate Fetel’ según tratamiento de polinización, cosecha 2015.

Polinizante	Diámetro (mm)	Largo (cm)	Peso (g)	% Frutos con semillas maduras	% Frutos con rudimentos seminales
‘Williams precoz’	61,5 ns	10,8 ns	166,4 ns	75,0 ns	100
‘BP1’	64,2	10,6	172,9	86,4	100

ns: valores sin diferencia significativas ( $p \leq 0,05$ ) en cada columna.

El número de semillas presentes en los frutos fue en promedio de 4, con un rango de 1 a 8 semillas maduras, lo que concuerda con la propuesta de que un solo óvulo fecundado sería estímulo suficiente para el cuajado del fruto (Moriya et al., 2005, Sanzol, 2001). En este caso el tamaño de fruto no se correlacionó con el número de semillas presentes, resultando en un valor de  $r=0.015$ . Resultados similares reportó Sanzol (2001), en frutos provenientes de polinización cruzada con polen compatible, con valores significativamente superiores de semillas por fruto, oscilando entre 4,8 y 7,5.

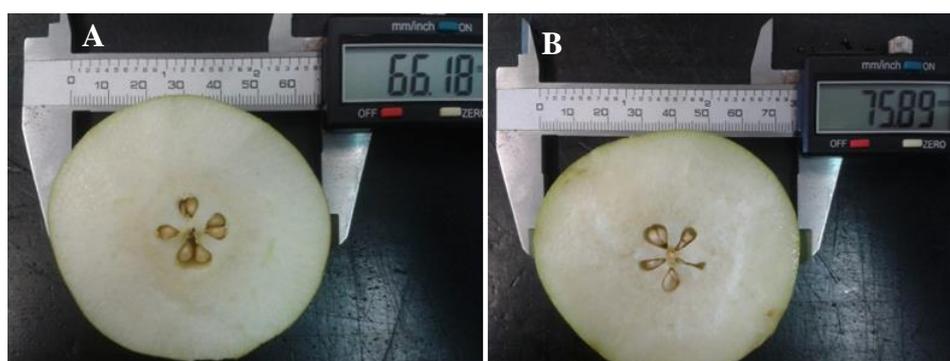


Figura 10. Frutos de pera ‘Abate Fetel’ provenientes de flores polinizadas con polen del cultivar ‘Williams precoz’ (A) y ‘BP1’ (B).

En el cultivar ‘Williams’ en el verano 2016, los frutos fueron cosechados antes de la madurez con la finalidad de observar si presentaban semillas y al año siguiente se cosecharon a la madurez. Los resultados obtenidos fueron similares a los determinados en el cultivar ‘Abate Fetel’. El tratamiento de polinización cruzada fue el único tratamiento que presentó frutos con semillas maduras (Cuadros 4 y 5, Figura 11). Los frutos de ‘Williams’ provenientes de flores autopolinizadas presentaron sólo rudimentos seminales, sin observarse semillas maduras y los frutos provenientes de las flores emasculadas no presentaron ningún tipo de semillas.



Figura 11. Frutos del cultivar de pera ‘Williams’ provenientes de flores polinizadas con el cultivar ‘Packham’s Triumph’ (A), autopolinizadas (B) y emasculadas sin polinización (C), cosecha 2016.

Cuadro 4. Tamaño de fruto y presencia de semillas en cultivar ‘Williams’ según tratamiento, cosecha 2016.

Tratamiento	Diámetro (mm)	% Frutos con semillas maduras	% Frutos con rudimentos seminales
Autopolinizada	33,8 ns <sup>z</sup>	0	100
Emasculada	34,4	0	0
Polinización cruzada	37,3	73	27

<sup>z</sup> ns: valores sin diferencia significativas ( $p \leq 0.05$ ) en cada columna.

Cuadro 5. Tamaño de fruto y presencia de semillas en cultivar ‘Williams’ según tratamiento, cosecha 2017.

Tratamiento	Diámetro (mm)	Peso (g)	% Frutos con semillas maduras	% Frutos con rudimentos seminales
Autopolinizada	61,75 ns <sup>z</sup>	130,78 ns	0	100
Emasculada	53,33	97,21	0	0
Polinización cruzada	62,11	124,49	100	96

<sup>z</sup> ns: valores sin diferencia significativas ( $p \leq 0,05$ ) en cada columna.

En especies autocompatibles la fecundación de los óvulos con su propio polen genera un porcentaje de aborto de embriones mayor, en comparación con la fecundación por polinización cruzada. Esto sugiere la presencia adicional de una o más barreras reproductivas pos-cigóticas que bloquean la formación de semilla autopolinizada (Martin y Lee, 1993). Esto podría estar explicando que los frutos de ‘Williams’ que fueron autopolinizados, presentaron sólo rudimentos seminales, sin observarse semillas maduras y, por lo tanto, no debería considerarse un cultivar compatible, dada su imposibilidad de dejar descendencia.

Con respecto al tamaño, los resultados de la cosecha de 2017 del cultivar ‘Williams’ se comprobó que el diámetro y el peso final de los frutos provenientes de flores autopolinizadas y de polinización cruzada, presentaron valores levemente superiores que los frutos provenientes de flores sin polinizar, sin diferenciarse estadísticamente (Cuadro 5).

En términos generales se considera más favorable para la producción de frutos de calidad, que todos los óvulos de una flor sean fecundados y se formen semillas. Esto estaría indicando que a mayor número de semillas en desarrollo, se sintetizan más hormonas vegetales como auxinas y giberelinas, que provocan la expansión del ovario,

por lo que la fruta crece y se expande en las regiones donde se encuentran las semillas fecundadas (Claessen et al., 2019).

Una posible respuesta a la ausencia de semillas maduras en los frutos provenientes de flores autopolinizadas en ‘Williams’, podría darse por parte de un mecanismo de autoincompatibilidad expresado pos-fecundación, el cual no fue abordado en este estudio, ya que no se contemplaba dentro de las hipótesis de trabajo. Si bien en los antecedentes, se plantea la estenospermocarpia, como el desarrollo de frutos con semillas parcialmente formadas, debido al aborto de los embriones luego de la fecundación (Vardi et al., 2008), no se encontraron reportes que demuestren este fenómeno en peral.

En las condiciones de producción de pera comerciales en Uruguay, la mayoría son monovarietales, sin cultivares polinizadores y en algunos casos con baja presencia de estos. En tal sentido, uno de los problemas no abordados en este trabajo, dado que las polinizaciones se realizaron de forma manual y con alta carga de polen, es la actividad de las abejas y la presencia de polinizadores compatibles y sincronizados en sus floraciones. En general la polinización abierta en el cultivo de pera resulta en un número muy bajo de polen depositado en los estigmas de las flores, debido a que la flor de pera es poco atractiva para las abejas por su bajo contenido de néctar (Konarska et al., 2005; Jacquemart et al., 2006). Los eventos de polinización repetidos en una misma flor son raros en condiciones naturales del cultivo, dado que es poco probable que los insectos polinizadores vuelvan a visitar una flor (Giurfa, 1996, Witjes y Eltz, 2007, Wilms y Eltz, 2008). Al bajo número de granos de polen recién mencionado, se agrega además que, en el cultivo de pera, el polen que alcanza el estigma consiste principalmente del propio polen del cultivar. Especialmente considerando el hecho de que los insectos polinizadores en los montes de perales suelen visitar varias flores del mismo árbol, más aún en ausencia de cultivares polinizadores como se da en nuestras condiciones.

A partir de los datos generados parece de suma importancia mejorar la disponibilidad de polen compatible en las plantaciones comerciales, de forma de favorecer la polinización cruzada y así incrementar los porcentajes de cuajado. Es necesario seguir evaluando la compatibilidad de otros cultivares comerciales, así como

mejorar la actividad de las abejas o la posibilidad de aplicar polen comercialmente disponible.

#### **4. CONCLUSIONES**

En las condiciones y en los años analizados en este trabajo se puede concluir que:

- El cultivar ‘Abate Fetel’ presentó un sistema de autoincompatibilidad de tipo gametofítico, deteniendo el crecimiento de su tubo polínico en la primera mitad del estilo.
- En ausencia de polinización cruzada el cuajado de frutos del cultivar ‘Abate Fetel’ fue nulo, demostrando no tener capacidad partenocárpica.
- En condiciones de polinización cruzada con los cultivares ‘Williams precoz’ y ‘BP1’, el porcentaje de cuajado se incrementó a 76 % y 57 %.
- El porcentaje de frutos con semillas maduras fue de 75% y 86% respectivamente para los polinizadores ‘Williams precoz’ y ‘BP1’ respectivamente, presentando en promedio 4 semillas por fruto.
- El cultivar ‘Williams’ demostró tener capacidad partenocárpica en ausencia de polen y además logró formar frutos en condiciones de autopolinización.
- En condiciones de polinización cruzada con el cultivar ‘Packham's Triumph’ el porcentaje de frutos cuajados fue 40 %, siendo este significativamente mayor que el cuajado de frutos provenientes de flores autopolinizadas o emasculadas.
- El porcentaje de frutos con semillas maduras fue de 100% en condiciones de polinización cruzada, con un promedio de 6,6 semillas por fruto. En autopolinización presentó solamente rudimentos seminales, sin presencia de semillas maduras.
- Si bien ‘Williams’ es capaz de producir frutos partenocárpicos, la utilización de cultivares polinizadores aumentaría el cuajado final de fruta.

## **5. BIBLIOGRAFÍA**

- Abrol D. 2012. Pollination biology, biodiversity conservation and agricultural production. Dordrecht, Springer. 792 p.
- Agustí M. 2010. Fruticultura. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. 507 p.
- Agustí M. 2004. Fruticultura. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. 493 p.
- Agustí M, Martínez-Fuentes A, Mesejo C, Juan M, Almela V. 2003. Cuajado y desarrollo de frutos Cítricos. Valencia. Generalitat Valenciana, Conselleria D'Agricultura, Peixca I Alimentació. Sèrie Divulgació Tècnica (55). 80 p.
- Cerovic R, Fotirić Akšić, M, Meland, M. 2020. Success Rate of Individual Pollinizers for the Pear Cultivars “Ingeborg” and “Celina” in a Nordic Climate. *Agronomy* 10 (7): 970-987. doi.org/10.3390/agronomy10070970
- Chao CC T, Fang J, Devanand PS. 2005. Long distance pollen flow in mandarin orchards determined by AFLP markers-implications for seedless mandarin production. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130 (3): 374-380.
- Chițu V, Braniste N, Militaru M, Chițu E .2011. Effect of treatment with prohexadione-Ca product on pear fruits shelf life. *Acta Horticulturae*. 981, 573-580. doi: 10.17660/ActaHortic.2013.981.92
- Claessen H, Keulemans W, Van de Poel B, De Storme N. 2019. Finding a compatible Partner: Self-Incompatibility in European Pear (*Pyrus communis*); Molecular Control, Genetic Determination, and Impact on Fertilization and Fruit Set. *Frontier Plant Science*. (10):407. doi: 10.3389/fpls.2019.00407

- De Franceschi P, Dondini L, Sanzol J. 2012. Molecular bases and evolutionary dynamics of self-incompatibility in the Pyrinae (Rosaceae). *Journal of Experimental Botany*. 63 (11): 4015-4032. doi:10.1093/jxb/ers108
- Distefano G, Hedhly A, Las Casas G, La Malfa S, Herrero M, Gentile A. 2012. Male-female interaction and temperatura variation affect pollen performance in Citrus. *Scientia Horticulturae* 140: 1-7.
- Distefano G, Gentile A, Herrero M. 2011. Pollen-pistil interactions and early fruiting in parthenocarpic citrus. *Annals of Botany* 108: 499-509.
- Distefano G, Las Casas, G, La Malfa S, Gentile A, Tribulato E. 2009. Pollen tube behavior in different mandarin hybrids. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 134 (6): 583-588.
- Dumas C, Knox RB. 1983. Callose and determination of pistil viability and incompatibility. *Theoretical and Applied Genetics* 67: 1-10.
- Dussi M. 2011. Sustainable Use of Plant Bioregulators in Pear Production. En: *International Pear Symposium (11th, 2010, Patagonia, Argentina)*. *Acta Horticulturae* 909: 353-367.
- Egea J, Burgos L. 1992. Effective pollination period as related to stigma receptivity in apricot. *Scientia Horticulturae*, 52, (1-2): 77-83. doi: 10.1016/0304-4238(92)90010-A
- Ferree DC. 1989. Influence of orchard management systems on spur quality, light and fruit within the canopy of "Golden Delicious" apple trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 114(6): 869-875.

- Fleckinger J. 1965. Stades repérés des Pomacées. Les champignons parasites del arbres fruitiers a pepins. Coll. G.: Viennot-Bourginn, I.
- Frost HB, Soost RS. 1968. Seed reproduction: development of gametes and embryos. In: Reuther, W.; Batchelor, L. D.; Webber, H. J. The citrus industry. Berkeley, University of California 2(4): 290-319.
- Gambetta G, Gravina A, Fasiolo C, Fornero C, Galiger S, Inzaurrealde C, Rey F. 2013. Self-incompatibility, parthenocarpy and reduction of seed presence in 'Afourer' mandarin. *Scientia Horticulturae* (164): 183-188. doi:10.1016/j.scienta.2013.09.002
- Gil-Albert F. 1989. Tratado de arboricultura frutal (I). Madrid: Mundi-Prensa Libros. 232 p.
- Giurfa M. 1996. Movement patterns of honeybee foragers: motivation and decision rules dependent on the rate of reward. *Behaviour* 133: 579-596.
- Goldraij A, Kondo K, Lee C.B, Hancock, CN, Sivaguru M, Vazquez- Santana S. (2006). Compartmentalization of S-RNase and HT-B degradation in self-incompatible Nicotiana. *Nature* 439: 805-810.
- González MV, Coque M, Herrero M. 1995. Stigmatic receptivity limits the effective pollination period in Kiwi fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 120 (2): 199-202. doi: 10.21273/JASHS.120.2.199
- Gravina A. 1999. Ciclo fenológico-reproductivo en citrus, bases fisiológicas y manejo. Montevideo, Facultad de Agronomía. CSIC. 55 p.

- Greene DW. 1980. Effect of silver nitrate, aminoethoxyvinylglycine and gibberellins A4+7 plus 6-benzylaminopurine on fruit set and development of 'Delicious' apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 105: 717-720.
- Griggs WH, Iwakiri BT. 1954. Pollination and parthenocarpy in the production of Bartlett pears in California. *Hilgardia* 22: 643-678.
- Heng W, Wu HQ, Huang SX, Zhang SJ, Wu J, Fang CQ, Zhang SL. 2008. Identification of S-genotypes and novel S-RNases in native Chinese pear. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 83: 629-634.
- Herrero M, Arbeloa A. 1989. Influence of the pistil on pollen tube kinetics in peach (*Prunus persica*). *American Journal of Botany* 76 (10): 1441-1447.
- Herrero M. 1983. Factors affecting fruit set in 'Agua de Aranjuez' pear. *Acta Horticulturae* (139): 91-96.
- Hiratsuka S, Zhang SL. 2002. Relationships between fruit set, pollen-tube growth, and S-RNase concentration in the self-incompatible Japanese pear. *Scientia Horticulturae* 95: 309-318.
- Jacquemart AL, Michotte-Van der Aa A, Raspé O. 2006. Compatibility and pollinator efficiency tests on *Pyrus communis* cv. 'Conference'. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 81: 827-830.
- Koltunow AM, Soltys K, Nito N, McClure S. 1995. Anther, ovule, seed, and nucellar embryo development in *Citrus sinensis* cv. Valencia. *Canadian Journal of Botany* 73: 1567-1582.

- Konarska A, Masierowska M, Weryszko-Chmielewska E. 2005. The structure of nectaries and nectar secretion in common pear (*Pyrus communis* L.). Journal of Apicultural Science 49: 85-92.
- Kramer S, Achuricht R, Firedrich G. 1982. Fruticultura. Mexico: Compañía Editorial Continental. 276 p.
- Kuroki K, Takemura Y, Mingfeng J, Marumori H, Teratani N, Matsumoto K, Matsumoto T, Tamura F. 2016. Pear pollen selection using higher germination properties at low temperatures and the effect on the fruit set and quality of Japanese pear cultivars. Scientia Horticulturae 216: 200-204. doi: 10.1016/j.scienta.2017.01.013.
- Luu DT, Qin X, Morse D. 2000. S-RNase uptake by compatible pollen tubes in gametophytic self-incompatibility. Nature 407, 649-651.  
<https://doi.org/10.1038/35036623>
- Martin ME, Lee TD. 1993. Self pollination and resource availability affect ovule abortion in *Cassia fasciculata* (Caesalpiaceae). Oecologia 94: 503-509.
- McClure BA, Gray JE, Anderson MA, Clarke AE. 1990. Self-incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen Rrna. Nature 347: 757-760.
- Mesejo C, Yuste R, Martínez-Fuentes A, Reig C, Iglesias DJ, Primo-Millo E, Agustí M. 2013. Self-pollination and parthenocarpic ability in developing ovaries of self-incompatible Clementine mandarins (*Citrus Clementina*). Physiologia Plantarum 148: 87-96.
- Mesejo C. 2007. El control de la polinización cruzada en los cítricos. Tesis Doctoral. Valencia, España. Universitat Politècnica de València. 120 p.

Mesejo C, Martínez-Fuentes A, Reig C, Agustí M. 2007. The effective pollination period in ‘Clemenules’ mandarin, ‘Owari’ Satsuma mandarin and ‘Valencia’ sweet orange. *Plant Science* 173 (2): 223-230.  
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.05.009>.

MGAP. DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias). 2020. Anuario 2020. Montevideo, Uruguay. 270p.

Miranda C. 2010. Polinización y cuajado en árboles frutales. Departamento de Producción Agraria. Sección de Fruticultura y Viticultura. Universidad Pública de Navarra. España. 24p.

Miranda C, Santesteban LG, Royo JB. 2005. Influence of reproductive impairment of most developed flowers on fruit set and fruit quality in pear. *Hortscience*. 40 (5): 1276-1279.

Monzón VH, Bosch J, Retana J. 2004. Foraging behavior and pollinating effectiveness of *Osmia cornuta* (Hymenoptera: Megachilidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) on “Comice” pear. *Apidologie* 35. 575-585.  
doi: 10.1051/apido:2004055.

Moriya Y, Takai Y, Okada K, Ito D, Shiozaki Y, Nakanishi T, Takasaki T. 2005. Parthenocarpy and self- and cross-incompatibility in ten European pear cultivars. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 74: 424-430.

- Nasrallah JB, Stein JC, Kandasamy MK, Nasrallah ME. 1998. Signaling the arrest of pollen tube development in self-incompatible plants. *Science* 266 (5190): 1505-1508.
- Nishitani C, Yamaguchi-Nakamura A, Hosaka F, Terakami S, Shimizu T, Yano K, Itai A, Saito T, Yamamoto T. 2012. Parthenocarpic genetic resources and gene expression related to parthenocarpy among four species in pear (*Pyrus* spp.). *Scientia Horticulturae* 136: 101-109. doi:10.1016/j.scienta.2011.12.029.
- Nyéki J, Soltész M, Iváncsics J. 2000. Self fertility of pear varieties conditioned by natural self pollination (autogamy). *International Journal of Horticultural Science*, 6(1), 110–113. <https://doi.org/10.31421/IJHS/6/1/79>
- Nyéki J, Soltész M. 1998. The variation of seed content of fruits in pear varieties, also as function of different conditions of fertilization, as open pollination, natural autogamy and allogamy. En: *International Pear Symposium (VII, 1998, Talca, Chile)*. *Acta Horticulturae* 475. 237-250  
doi: 10.17660/ActaHortic.1998.475.30
- Nyéki J, Soltész M, Iváncsics J. 1998. Natural tendency to parthenocarpy of pear cultivars in Hungary. En: *International Pear Symposium (VII, 1998, Talca, Chile)*. *Acta Horticulturae* 475. 367–378. doi: 10.17660/ActaHortic.1998.475.30
- Pardo E, Borges A, Gravina A. 2010. Relación entre tamaño de fruto y número de semillas en mandarina ‘Afourer’. In: *Simposio de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Citrus (3º, 2010, Salto, Uruguay)*. Trabajos presentados. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 68-71.
- Poehlman JM, Sleper DA. 2003. *Mejoramiento genético de las cosechas*. 2ª. ed. México, Limusa. 511 p.

- Qi YJ, Wang YT, Han YX, Qiang S, Wu J, Tao ST. 2011. Self-compatibility of “Zaoguan” (*Pyrus bretschneideri* Rehd.) is associated with style-part mutations. *Genetica* 139: 1149-1158.
- Quinet M, Warzée M, Vanderplanck M, Michez D, Lognay G, Jacquemart AL. 2016. Do floral resources influence pollination rates and subsequent fruit set in pear (*Pyrus communis* L.) and apple (*Malus x domestica* Borkh) cultivars. *European Journal of Agronomy* 77. 59-69. doi:10.1016/j.eja.2016.04.001
- Ravaglia G. 1991. Partenocarpia, forma e caratteri biometrici dei frutti in "William" (*Pyrus communis* L.). *Rivista di Frutticoltura*. (11): 81-84.
- Rom C, Barrit B. 1987. Management of apple fruiting and shading of spurs and shoots on spur performance. *Journal of American Society for Horticultural Science*. 111:352-356.
- Royo JB, Miranda C, Santesteban G. 2009. Determinación precoz de la producción potencial de plantaciones de peral. *Vida Rural* 295. 36-40.
- Sánchez E, Curetti M, Retamales, J. 2011. Effect of AVG application on fruit set, yield and fruit size in ‘Abate Fetel’ and ‘Packam’s Triumph’ pears in a semi-commercial statistical trial. En: *International Pear Symposium (11th, 2010, Patagonia, Argentina)*. *Acta Horticulturae* 909: 435-440.
- Sanzol J, Herrero M. 2007. Self-incompatibility and self-fruitfulness in pear Cv. Agua de Aranjuez. *Journal of American Society for Horticultural Science* 132: 166-171.
- Sanzol J, Herrero M. 2002. Identification of self-incompatibility alleles in pearcultivars (*Pyrus communis* L.). *Euphytica* 128: 325-331.

- Sanzol J. 2001. Mecanismos reproductivos que regulan la fructificación en peral (*Pyrus communis* L.) cv. "Agua de Aranjuez". Tesis Doctoral. Navarra, España. Universidad Pública de Navarra. 202 p.
- Sanzol J, Herrero M. 2001. The "effective pollination period" in fruit trees. *Scientia Horticulturae* 90 (1-2): 1-17.
- Shaoling Z, Jigun Y, Xiugen L, Hiratsuka S, Wolukau J. 2002. Differences of S-glycoprotein content in the styles among pear cultivars differing in self-incompatible strength. *Acta Horticulturae. Sin.* 29: 165-167.
- Soltész M. 1997. Laws of bloom phenology by apple. *Acta Horticulturae.* 437: 451-456. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.437.61
- Sozzi GO. 2007. Árboles frutales, ecofisiología, cultivo y aprovechamiento. Buenos Aires, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. 848 p.
- Tadeo FR, Moya JL, Iglesias DJ, Talón M, Primo-Millo E. 2003. Histología y citología de cítricos. Valencia, Generalitat Valenciana, Conselleria D'Agricultura, Peixca I Alimentació. 99 p.
- Talón M, Zacarias L, Primo-Millo E. 1992. Gibberellins and parthenocarpic ability in developing ovaries of seedless mandarins. *Plant Physiology.* 99 (4): 1575-1581. doi: 10.1104/pp.99.4.1575
- Tassinari P, Zuccherelli S, Sansavini, S. 2004. Self pollination and fertility in european pear (*Pyrus communis* L.) cultivars. En: Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics. (XIth, 2004, Angers, France) *Acta Horticulturae.* 663: 677-680. doi: 10.17660/ActaHortic.2004.663.122

- Theron KI, Chabikwa TG, Lötze GFA. 2011. Evaluation of 6-Benzyladenine (BA) and Naphthylacetamide (NAD) as post-bloom thinning compounds for 'Early Bon Chrétien' pear. En: International Pear Symposium (11th, 2010, Patagonia, Argentina). *Acta Horticulturae* 909. 387-393.
- Uwate WJ, Lin J. 1981. Development of the Stigmatic Surface of *Prunus avium* L., Sweet Cherry. *American Journal of Botany*. 68 (9): 1165-1176.
- Vardi A, Levin I, Carmi N. 2008. Induction of seedlessness in citrus; from classical techniques to emerging biotechnological approaches. *Journal of the American Society of Horticultural Science*. 133 (1): 117-126.  
doi:10.21273/JASHS.133.1.117
- Wang GM, Xin Qiao, CG, Zhao BY, Ke YQ, Guo BB, Hao PP, Qi KJ, Zhang SL. 2017. Characteristic of pollen tube that grew into self style in pear cultivar and parent assignment for cross-pollination. *Scientia Horticulturae* 216: 226-233. doi: 10.1016/j.scienta.2016.10.035
- Williams RR. 1965. The effects of summer nitrogen applications on the quality of apple blossom. *The Journal of Horticulture Science* 40: 31-34.
- Wilms J, Eltz T. 2008. Foraging scent marks of bumblebees: footprint cues rather than pheromone signals. *Naturwissenschaften* 95: 149-153.
- Witjes S, Eltz T. 2007. Influence of scent deposits on flower choice: experiments in an artificial flower array with bumblebees. *Apidologie* 38: 12-18.
- Zhang C, Lee U, Tanabe K. 2008. Hormonal regulation of fruit set, parthenogenesis induction and fruit expansion in Japanese pear. *Plant Growth Regulation*, 55(3), 231–240. doi:10.1007/s10725-008-9279-2

## **6. ANEXOS**

### **ANEXO 1. DATOS CLIMÁTICOS**

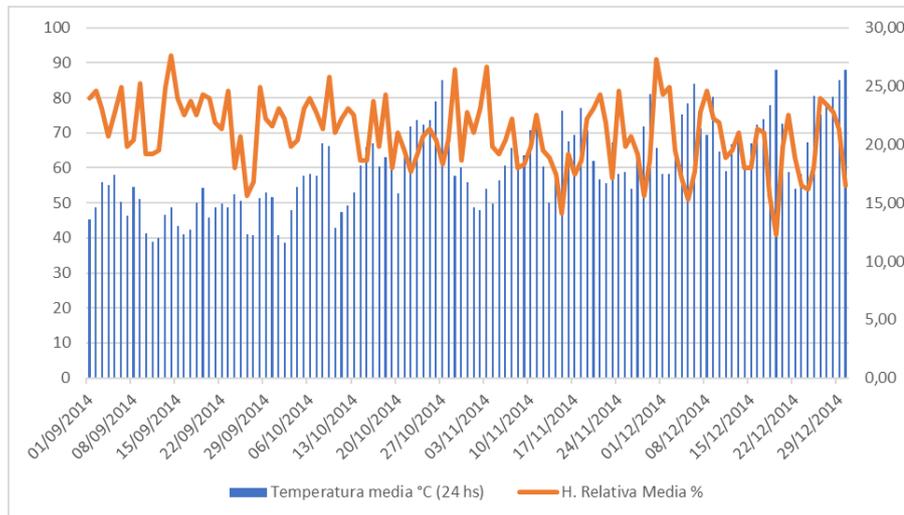


Figura 1. Valores promedio diarios de Temperatura media en °C y Humedad relativa en %, registrada en la Estación Experimental INIA Las Brujas, Canelones, en el periodo desde setiembre a diciembre del año 2014.

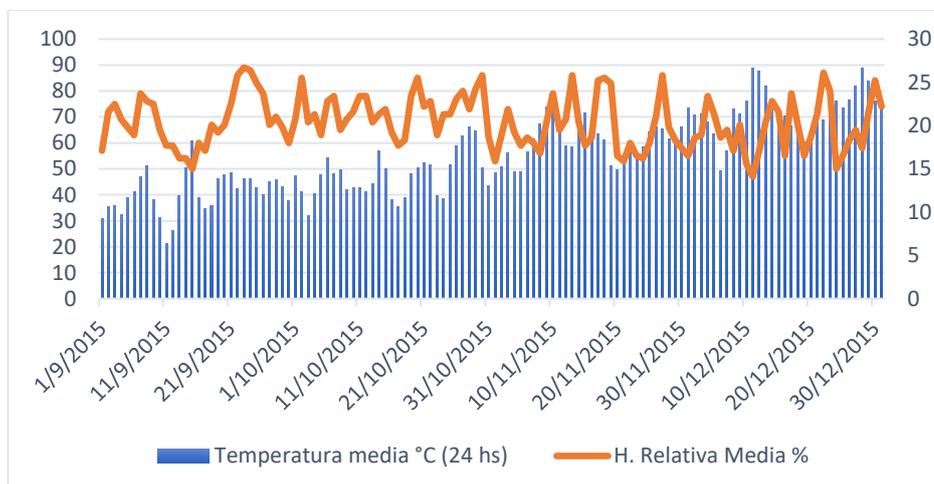


Figura 2. Valores promedio diarios de Temperatura media en °C y Humedad relativa en %, registrada en la Estación Experimental INIA Las Brujas, Canelones, en el periodo desde setiembre a diciembre del año 2015.

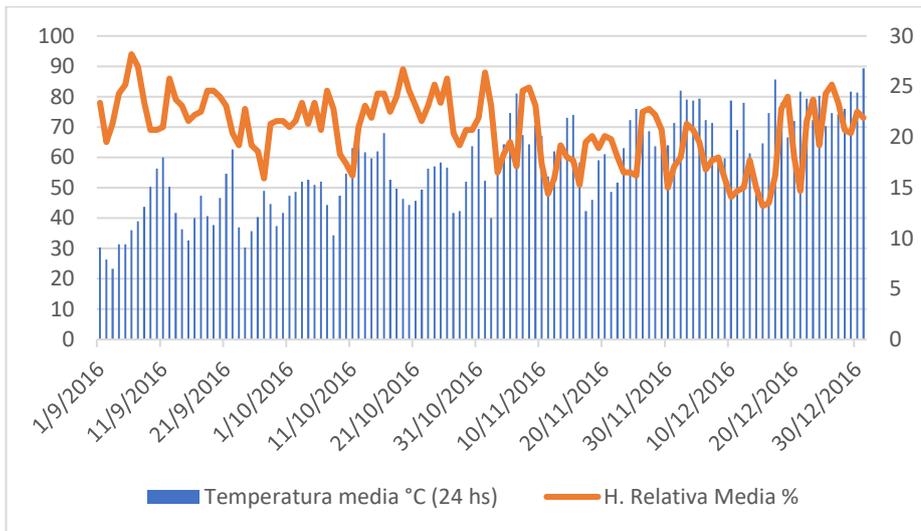


Figura 3. Valores promedios diarios de Temperatura media en °C y Humedad relativa en %, registrada en la Estación Experimental INIA Las Brujas, Canelones, en el periodo desde setiembre a diciembre del año 2016.



**Editor**  
Carolina Fasiolo  
*Instituto Nacional de  
Investigación Agropecuaria.*  
Canelones, Uruguay.  
<http://www.inia.uy>

**Correspondence**  
Carolina Fasiolo,  
  
[cfasiolo@inia.org.uy](mailto:cfasiolo@inia.org.uy)

**Citation**  
Fasiolo, Zoppolo, Gravina.  
Compatibilidad, capacidad  
partenocárpica y polinización  
cruzada de los cultivares de pera  
Abate Fetel y Williams.  
Agrociencia Uruguay [Internet].  
yyyy [cited dd mmm  
yyyy];v(i):artíclen°. Available  
from: <http://agrocienciauruguay.uy/ojs/index.php/agrociencia/articloe/view/xx>

**Compatibility, parthenocarpic capacity and  
cross pollination of 'Abate Fetel' and  
'Williams' pear cultivars**

**Compatibilidad, capacidad partenocárpica y  
polinización cruzada de los cultivares de  
pera 'Abate Fetel' y 'Williams'**

**Caracterização da compatibilidade,  
capacidade partenocárpica e polinização  
cruzada das cultivares de pera 'Abate Fetel'  
e 'Williams'**

Fasiolo, C.<sup>1\*</sup>; Zoppolo, R.<sup>2</sup>; Gravina, A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Programa Nacional de Investigación en Producción Frutícola. Canelones, Uruguay. <http://www.inia.uy>*

<sup>2</sup>*Universidad de la República. Facultad de Agronomía. Departamento de Producción Vegetal. Ecofisiología de Frutales. Montevideo, Uruguay.*

<http://www.fagro.edu.uy>

## Abstract

The pear tree (*Pyrus communis*) shows self-incompatibility and inter-compatibility, with high parthenocarpy capacity reported in 'Williams' cultivar. The objective of this work was to characterize the reproductive biology, and to evaluate the genetic compatibility of the cultivars 'Abate Fetel' and 'Williams' under Uruguayan agroclimatic conditions. In 'Abate Fetel', 60 flowers were bagged with an anti-insect mesh (self-pollinated), 60 were emasculated and bagged (not pollinated) and other 120 were emasculated, hand-pollinated with two cultivars and then bagged (cross-pollinated). For the cross pollinations, cultivars 'Early Bon Chretien' and 'BP1' rootstock were used. In "Williams" the pollinator was the cultivar 'Packham's Triumph'. Simultaneously, flower samples were taken from each treatment at 2, 5 and 7 days after treatment application, to study pollen germination and pollen tube growth. Fruit set was evaluated in the field and at harvest fruit number and size and seed presence were determined. Results allowed to confirm that 'Abate Fetel' presents gametophytic self-incompatibility, stopping pollen tube growth in the first half of the style. For the same cultivar, self-pollinated and not pollinated flower resulted in 0 % fruit set. Cross pollinated flowers reached 58 % of fruit set with 'BP1' and 76 % with 'Early Bon Chretien'. In 'Williams' self-pollinated and non-pollinated flowers resulted in 13 % and 14 % of fruit set, respectively, while cross-pollinated flowers reached 40%.

**Keywords:** self-incompatibility, fruit set, flowering, Bartlett, pollen

## Resumen

El peral (*Pyrus communis*) presenta autoincompatibilidad e intercompatibilidad floral, con alta capacidad partenocárpica reportada en el cultivar 'Williams'. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la biología reproductiva, y evaluar la compatibilidad genética de los cultivares 'Abate Fetel' y 'Williams' para las condiciones agroclimáticas uruguayas. En 'Abate Fetel', 60 flores se embolsaron con una malla anti-insectos (autopolinizadas), 60 fueron emasculadas y embolsadas (sin polinizar) y otras 120 se emascularon, se polinizaron manualmente con dos cultivares diferentes y luego se embolsaron (polinización cruzada). Para las polinizaciones cruzadas dirigidas se utilizaron el cultivar 'Early Bon Chretien' y el cultivar 'BP1'. En "Williams" el polinizador fue el cultivar 'Packham's Triumph'. Simultáneamente, se tomaron muestras de flores de cada tratamiento a los 2, 5 y 7 días después de la aplicación del tratamiento, para estudiar la germinación de los granos de polen y el crecimiento del tubo polínico. En el campo se evaluó el porcentaje de cuajado de frutos y en la cosecha se determinó número y tamaño de frutos y la presencia de semillas. Los resultados permitieron confirmar que 'Abate Fetel' presenta autoincompatibilidad de tipo gametofítico, deteniendo el crecimiento de su tubo polínico en la primera mitad del estilo. Para el mismo cultivar, los tratamientos de flores autopolinizadas y sin polinizar dieron como resultado un 0 % de frutos cuajados. La polinización cruzada alcanzó el 58 % de cuajado con polen de 'BP1' y el 76 % con 'Early Bon Chretien'. En 'Williams' el tratamiento de autopolinización y sin polinizar, resultó en un 13 % y 14 % de cuajado respectivamente, mientras que las flores de polinización cruzada alcanzaron el 40 %.

**Palabras clave:** autoincompatibilidad, cuajado, floración, Bartlett, polen

## Resumo

A pereira (*Pyrus communis*) apresenta autoincompatibilidade e intercompatibilidade floral, com alta capacidade partenocárpica relatada na cultivar Williams. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a biologia reprodutiva e avaliar a compatibilidade genética das cultivares 'Abate Fetel' e 'Williams' para as condições agroclimáticas do Uruguai. Em 'Abate Fetel', 60 flores foram ensacadas com tela anti-inseto (autopolinização), 60 foram emasculadas e ensacadas (não polinizadas) e outras 120 foram emasculadas, polinizadas manualmente e depois ensacadas (polinização cruzada). Para as polinizações cruzadas dirigidas, foram utilizados a cultivar 'Early Bon Chretien' e o porta-enxerto 'BP1'. Em "Williams" o polinizador foi a cultivar 'Packham's Triumph'. Simultaneamente, amostras de flores foram retiradas de cada tratamento aos 2, 5 e 7 dias após a aplicação do tratamento, para estudar a germinação dos grãos de pólen e o crescimento do tubo polínico. A frutificação foi avaliada no campo; na colheita foram determinados o número e o tamanho dos frutos e a presença de sementes. Os resultados confirmaram que 'Abate Fetel' apresenta auto-incompatibilidade do tipo gametofítico, interrompendo o crescimento do seu tubo polínico na primeira metade do estilo. Para a mesma cultivar, os tratamentos com flores autopolinizadas e não polinizadas resultaram em 0% de frutificação. A polinização cruzada atingiu 58% ('BP1') e 76% ('Early Bon Chretien') da frutificação. Em 'Williams' os tratamentos autopolinizantes e não polinizados resultaram em 13% e 14% de frutificação respectivamente, enquanto as flores de polinização cruzada atingiram 40%.

**Palavras-chave:** auto-incompatibilidade, frutificação, floração, Bartlett, pólen

## 1. Introducción

La fruticultura de hoja caduca uruguaya ocupa una superficie total efectiva de 4.633 hectáreas, contemplando las especies de manzanos, durazneros, perales, ciruelos, nectarinos y membrilleros. Los manzanos son los que ocupan mayor superficie, 50 % del total, seguido por los durazneros 26 %, los perales 14 %, y en menor proporción, los ciruelos, nectarinos y membrilleros que ocupan un 5 %, 3 %, y 3 % respectivamente (MGAP. DIEA, 2020). El principal destino de la producción es el abastecimiento del mercado interno, siendo que el 85 % de la fruta producida es para su consumo en fresco, un 11 % se industrializa y el 4 % se exporta (MGAP. DIEA, 2020). La producción nacional de peras fue de 11.004 toneladas en la cosecha 2018-2019, de las cuales el 94 % se comercializó para consumo en fresco en el mercado interno, y un 5 % se exportó. Tomando como referencia los últimos seis años de este cultivo, el número de plantas en producción permaneció casi constante entre las 540 y 590 mil plantas, mientras que la producción total en el mismo período osciló entre las 13.516 y las 4.374 toneladas (MGAP. DIEA, 2020). Dentro de los cultivares plantados en el país, el cultivar 'Williams', también conocido como 'Williams Bon Chretien' o 'Bartlett', representa el 82 % de la superficie total, seguido por un 9 % que corresponde al cultivar 'Packham's Triumph', 5 % a 'Abate Fetel' y el restante porcentaje corresponde a cultivares como 'Early Bon Chretien' o 'Williams Precoz', 'Santa Maria Morettini' y 'Red Bartlett'. Como la mayoría de las especies de la familia Rosaceae, el árbol de pera europea (*Pyrus communis*) es una especie entomófila autoincompatible (De Franceschi et al., 2012), cuya producción de fruta se basa en la polinización cruzada entre cultivares compatibles con su posterior fecundación (Monzón et al., 2004;

Quinet y Jacquemart, 2017; Theron, 2011). Sanzol (2001), realizó un estudio de caracterización del cultivar 'Agua de Aranjuez', demostrando la autoincompatibilidad de este cultivar y su dependencia de la polinización cruzada para cuajar aceptablemente. Existe escaso conocimiento sobre la biología reproductiva de los cultivares de peral plantados en Uruguay, así como de la compatibilidad y capacidad partenocárpica en nuestras condiciones. Debido a esta problemática se plantea como objetivo general estudiar las posibles causas relacionadas a la polinización y cuajado que pueden estar afectando la producción de pera en el sur del Uruguay. Para el mismo se plantean tres objetivos específicos: 1) Estudiar la compatibilidad genética de los cultivares 'Williams' y 'Abate Fetel', 2) Evaluar la capacidad partenocárpica de ambos cultivares en nuestras condiciones y 3) Determinar el porcentaje de cuajado, tamaño de frutos y presencia de semillas en condiciones de autopolinización, aislación y polinización dirigida con polen compatible.

## 2. Materiales y métodos

Los experimentos se realizaron en la Estación Experimental 'Wilson Ferreira Aldunate' del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) en la localidad de El Colorado, departamento de Canelones (-34.67 Sur -56.34 Oeste). El material vegetal utilizado fue árboles del cultivar 'Williams' sobre portainjerto OHxF333 (*Pyrus* sp.), y árboles del cultivar 'Abate Fetel' en portainjerto membrillero Adams. Ambos portainjertos confieren bajo vigor. Los árboles se mantuvieron en condiciones de riego, fertilización y poda acorde a los requerimientos del cultivar, y se realizó un manejo sanitario integrado.

2.1 Estudio de autocompatibilidad y capacidad partenocárpica. Para determinar

la capacidad partenocárpica y la autocompatibilidad, en ambos cultivares se marcaron 120 flores en estado fenológico F1 (Fleckinger, 1965). En cada cultivar, 60 flores fueron embolsadas con malla anti-insectos, de manera de evitar la polinización con otro cultivar. A las restantes 60 flores de cada cultivar se le quitaron las anteras manualmente con pinza (emasculación), y se colocó malla anti-insectos para impedir la llegada de polen foráneo. En todos los tratamientos las mallas se quitaron una vez cuajado el fruto.

2.2 Polinizaciones dirigidas. Para el estudio de la polinización cruzada se marcaron 120 flores en el cultivar 'Abate Fetel', de las cuales 60 fueron emasculadas, polinizadas manualmente con polen del cultivar 'Williams precoz', y embolsadas con malla anti-insectos. Las restantes 60 flores fueron emasculadas, polinizadas con polen de BP1 (*Pyrus communis*) utilizado como portainjerto, y embolsadas. En el cultivar 'Williams' en dos primaveras consecutivas (2015 y 2016) se marcaron 60 flores, las cuales fueron emasculadas, polinizadas manualmente con polen de 'Packham's Triumph' y embolsadas. En todos los casos las anteras maduras se colectaron 24 horas antes de la polinización, y se pusieron bajo luz artificial en placas de Petri. Luego de la dehiscencia de éstas y la liberación del polen, éste se colectó y se procedió a polinizar. La elección de las variedades utilizadas como polinizadores se realizó en base a la sincronización en las floraciones, según datos de la Estación Experimental INIA Las Brujas. En todos los tratamientos las mallas se quitaron una vez cuajado el fruto.

2.3. Mediciones en campo y cosecha A partir de la caída de pétalos y hasta cosecha se evaluó, cada 15 días, la presencia o ausencia de los frutos en

relación con las flores marcadas inicialmente. En cosecha se contabilizó número de frutos finales, se tomó el peso y el diámetro ecuatorial de los frutos, y se contabilizó la presencia de semillas y número de semillas maduras y rudimentos seminales por fruto. El porcentaje de cuajado se analizó estadísticamente con un modelo lineal generalizado en el programa estadístico INFOSTAT (versión 2013) interfase con R (versión 3.0.1), y se utilizó el test DGC para la separación de medias. El diámetro, el peso y el largo del fruto se analizaron mediante un análisis de varianza, y la separación de medias se hizo por test de Tukey.

#### 2.4 Análisis microscópico de flores

Para el análisis microscópico se marcaron 15 flores de cada tratamiento (autopolinización, emasculación, y polinización cruzada) por cultivar. A partir de las polinizaciones, se muestrearon 5 flores por tratamiento, a los 2, 5 y 7 días post-antesis. Las flores se fijaron en FAA (5 % formol aldehído, 5 % ácido acético, 90 % etanol al 70 %) por 48 horas y luego se pasaron a solución de etanol al 70 % para su conservación. Con el objetivo de evaluar la germinación de granos de polen, crecimiento del tubo polínico y viabilidad de los óvulos, los estilos y estigmas fueron teñidos con una solución de azul de anilina, que iluminada con luz ultravioleta emite fluorescencia. Esta técnica fue eficaz para evaluar la germinación de los granos de polen 'in vivo', el crecimiento del tubo polínico y la viabilidad de óvulos mediante el uso de microscopio de fluorescencia (Dumas y Knox, 1983). Los granos de polen se consideraron germinados cuando el largo del tubo duplicaba diámetro del grano de polen. El crecimiento del tubo polínico en el estilo se determinó, como el porcentaje de longitud recorrido por el tubo

polínico más largo. La viabilidad de los óvulos se determinó contando los óvulos viables del total rescatado del ovario analizado. Se consideró viable cuando no presentaba fluorescencia en la zona de la chalaza, indicando que no existía depósito de calosa en dicha zona.

### 3. Resultados

#### 3.1. Germinación de polen 'in vivo'

El porcentaje promedio de germinación de granos de polen 'in vivo' superó el 76 % (Cuadro 1) en todos los cultivares utilizados, tanto para autopolinizaciones como para las polinizaciones cruzadas. Este resultado coincide con lo reportado por Zhang et al. (2010), quienes determinaron un porcentaje de germinación 'in vivo' en especies de *Pyrus pirifolia* que alcanzó el 60 %.

Cuadro 1. Promedio del porcentaje de germinación de polen in vivo en el estigma de flores de peral de los cultivares 'Abate Fetel' en el año 2014 y 'Williams' en el año 2016, según tratamiento.

Cultivar	Tratamiento	Germinación de polen (%)
'Abate Fetel'	Autopolinizada	82 a <sup>z</sup>
	Polinizada con BP1	78 a
	Polinizada con 'Williams precoz'	85 a
'Williams'	Autopolinizada	76 a
	Polinizada con 'Packham's Triumph'	87 a

<sup>z</sup> Medias seguidas por distinta letra dentro de la columna difieren estadísticamente ( $p \leq 0,05$ )

Los resultados muestran que la viabilidad

del polen utilizado no fue una limitante en esta primera etapa del proceso de fertilización. En las condiciones de este experimento en los años 2014, 2015 y 2016, dos días fueron suficientes para que los granos de polen germinaran, y los tubos polínicos comenzaron su recorrido por el estilo (Figura 1). En las flores que fueron emasculadas no se constató la presencia de polen, confirmando que la malla evitó la llegada de polen foráneo.

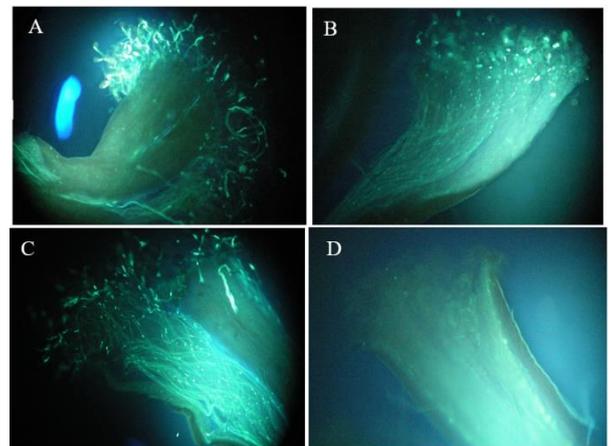


Figura 1. Imágenes del estigma de flores de 'Abate Fetel' en condiciones de autopolinización (A), polinizadas con polen de 'Williams precoz' (B), y polinizadas con polen de 'BP1' (C), flores emasculadas (D) a los 2 días post polinización, obtenidas con microscopio de fluorescencia.

#### Crecimiento del tubo polínico

A partir de la primera fecha de muestreo y hasta los 5 días post-polinización, en todas las flores de ambos cultivares se encontraron tubos polínicos creciendo a través del estilo, independientemente del polen utilizado. Esto coincide con lo estudiado por Wang et al. (2017), quienes reportaron tubos polínicos de varios cultivares de pera que llegaban hasta la base del estilo a las 72 horas de la

polinización. Los resultados muestran que el cultivar 'Abate Fetel' no presentó reacción de incompatibilidad genética cuando fue polinizada con polen del cultivar 'Williams precoz' y con el polen del portainjerto 'BP1', observándose que los tubos polínicos crecieron sin interrupción hasta la base del estilo (Figura 2).

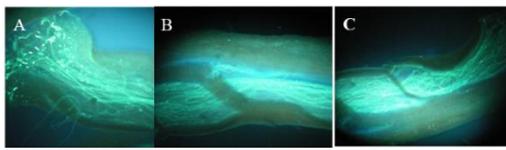


Figura 2. Imágenes del crecimiento del tubo polínico de 'Williams precoz' en el tercio superior (A), medio (B) e inferior (C) del estilo de 'Abate Fetel' a los 5 días post-polinización, obtenidas en microscopio de fluorescencia.

Se puede decir que en nuestras condiciones ambos polinizadores fueron compatibles genéticamente con el cultivar 'Abate Fetel', y dado que tienen un periodo de floración superpuesto, podrían utilizarse como cultivares polinizadores a escala comercial. En cambio, cuando 'Abate Fetel' fue autopolinizada presentó una típica reacción de incompatibilidad genética. Al observar el crecimiento del tubo polínico, en las flores que fueron autopolinizadas, éste detiene su crecimiento entre el primer y segundo tercio del estilo, lo que infiere una reacción de incompatibilidad genética entre el tubo polínico y su propio estilo (Figura 3). Esta reacción de incompatibilidad es típica de los frutales, en los que el polen es capaz de germinar en el estigma de la flor, pero en el estilo comienzan a sintetizarse RNA-asas que penetran en el tubo polínico y descomponen su RNA, deteniendo su crecimiento (McClure et al., 1990).

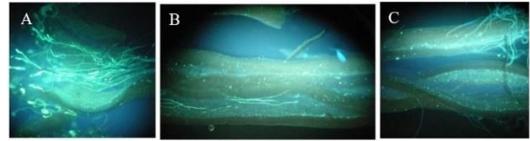


Figura 3. Imágenes del crecimiento del tubo polínico en el tercio superior (A), medio (B) e inferior (C) de flores de 'Abate Fetel' autopolinizadas a los 5 días post-polinización, obtenidas bajo microscopio de fluorescencia.

El peral está reportado como una especie autoincompatible dentro de la familia Rosaceae, ya que su polen puede germinar en el estigma, pero se detiene en su estilo (Heng et al., 2008; Qi et al., 2011). Este resultado coincide con Tassinari et al. (2004), quienes analizaron la compatibilidad genética de varios cultivares de pera europea, reportando un rango variable de incompatibilidad, mientras que 'Abate Fetel' resultó ser estrictamente autoincompatible.

Al analizar las flores del cultivar 'Williams', se observó que los tubos polínicos no se detenían en ningún tramo del estilo, llegando hasta la base de estos a los 5 días después de ser polinizadas. En este sentido no se encontró reacción de incompatibilidad en las flores autopolinizadas (Figura 4), ni en las flores polinizadas con polen de 'Packham's Triumph'.

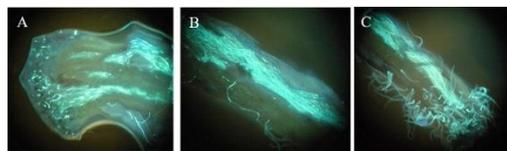


Figura 4. Imágenes de crecimiento del tubo polínico en el tercio superior del estilo (A), medio (B) e inferior (C), en flores del cultivar 'Williams' autopolinizadas, a los 5 días post-polinización, obtenidas en microscopio de fluorescencia.

### Viabilidad de los óvulos

La viabilidad de los óvulos se determinó como el porcentaje de óvulos sin presencia de depósito de calosa en la zona de la chalaza, en las distintas fechas de muestreo (Figura 5). En ambos cultivares el 100 % de los óvulos estuvo viable hasta los 5 días post-tratamiento.

A partir del día 7 se comenzó a observar síntomas de degeneración de los óvulos, disminuyendo el porcentaje de viabilidad a 70 % en promedio en los dos cultivares.

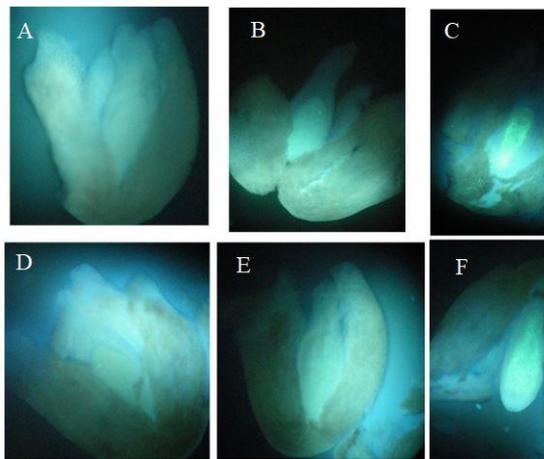


Figura 5. Viabilidad de óvulos determinada en microscopio de fluorescencia en flores de 'Abate Fetel' a los 2, 5 y 7 días post-polinización (A, B y C respectivamente) y de 'Williams' a los 2, 5 y 7 días post-polinización (D, E y F respectivamente). Nótese la fluorescencia de calosa, que representa pérdida de viabilidad, en los óvulos de ambos cultivares, correspondientes al día 7 post-polinización (C y F).

Estos resultados coinciden con lo reportado por Cerovic et al. (2020), quienes encontraron que en los cultivares de peral 'Ingeborg' y 'Celina', los óvulos degenerados aumentaron progresivamente al sexto día después de plena floración y fueron muy numerosos al duodécimo día.

En ambos cultivares el periodo de tiempo en el que la mayoría de los óvulos permanecen viables, fue suficiente para que los tubos polínicos recorrieran la totalidad del estilo y llegaran a fecundarlo. Sanzol et al, (2001) reportan que un período de vida corto de los óvulos es un factor importante que limita el periodo de polinización efectiva en un cultivar. Las bajas temperaturas durante la floración ralentizan la tasa de crecimiento del tubo polínico, pero extienden el periodo de polinización efectiva, a través de un efecto de prolongación de la vida de los óvulos. Sin embargo, las temperaturas extremadamente bajas pueden acortar el periodo de polinización efectiva, si la longevidad del óvulo no supera la tasa de crecimiento más lenta de los tubos polínicos (Lombard et al., 1971). Por el contrario, las altas temperaturas, mientras aumentan la tasa de crecimiento del tubo polínico, acortan el periodo de polinización efectiva al reducirse tanto la receptibilidad del estigma como la viabilidad de los óvulos (Sanzol, 2001).

Aunque la temperatura afecta claramente el periodo de polinización efectiva, parece que en nuestras condiciones se alcanzaría un equilibrio entre la receptibilidad del estigma, el crecimiento del tubo polínico y la viabilidad del óvulo que permite que la polinización ocurra sin mayores limitantes. En este sentido la viabilidad de los óvulos en las condiciones de este estudio no estaría siendo un factor que limite el período de polinización efectiva en el peral.

### Evolución de la abscisión y porcentaje de cuajado final

Los resultados obtenidos plantean una respuesta diferente entre tratamientos y por cultivar analizado. Las flores del cultivar 'Abate Fetel' que fueron emasculadas y las

autopolinizadas abscionaron en su totalidad a los 27 días post-tratamiento. (Cuadro 2). Este resultado concuerda con lo observado a nivel de microscopio, en donde este cultivar presentó reacción de autoincompatibilidad de tipo gametofítico. Según los resultados este cultivar, en el año de estudio, no presentó capacidad partenocárpica tanto con estímulo de polen o sin estímulo de polen las flores abscionaron en su totalidad. Por el contrario, las flores que fueron polinizadas manualmente con polen de 'Williams precoz' y del portainjerto 'BP1' alcanzaron porcentajes de cuajado final de 76 % y 57 % respectivamente.

Cuadro 2. Evolución del porcentaje de caída de frutos del cultivar 'Abate Fetel' provenientes de flores con diferentes tratamientos de polinización, desde la polinización hasta 70 días después.

Tratamiento	22	27	44	70
Autopolinizada	3,4 b	0 b	0 b	0 b
Sin polinizar	0 c	0 b	0 b	0 b
Polinizada con 'Williams precoz'	97,2 a	90,9 a	79,6 a	76,5 a
Polinizada con 'BP1'	76,4 a	68,8 a	64,6 a	57,6 a

<sup>z</sup> Medias seguidas por distinta letra dentro de cada columna difieren estadísticamente ( $p \leq 0,05$ )

El cuajado en las flores polinizadas manualmente en general fue alto, si lo comparamos con lo encontrado por Sánchez et al. (2011), quienes reportaron porcentajes de cuajado del 22 % en 'Abate Fetel' con aplicaciones combinadas de auxinas y giberelinas. Comercialmente en montes de éste y otros cultivares de pera

se utilizan reguladores de crecimiento para aumentar su cuajado.

Jacquemart et al. (2006), clasificaron el cultivar 'Conference' como completamente autoincompatible y por lo tanto que requiere de la polinización cruzada para desarrollar frutos con semillas. Los autores reportan que, las condiciones climáticas adversas en el periodo de floración podrían evitar la polinización por insectos y en dichas condiciones es común como práctica de manejo la aplicación de fitohormonas, principalmente giberelinas para inducir el cuajado partenocárpico. Según los resultados, 'Abate Fetel' en nuestras condiciones sería dependiente de polen de un cultivar compatible para producir fruta; los cultivares 'Williams precoz' y 'BP1' resultaron ser buenos polinizadores. En el cultivar 'Williams' la polinización cruzada aumentó significativamente el cuajado de frutos en los dos años estudiados. Las flores que fueron autopolinizadas y emasculadas lograron cuajar 7,5-14,2 % y 7,9-13,3 %, respectivamente, y el tratamiento de polinización cruzada alcanzó un cuajado de 25,6-40,4 % (Cuadro 3).

Cuadro 3. Porcentaje final de frutos cuajados del cultivar de pera 'Williams' según tratamiento de polinización realizado en dos años.

Año	Autopolinizada	Emasculada	Polinización cruzada
2015	7,5 b <sup>z</sup>	7,9 b	25,6 a
2016	14,2 b	13,3 b	40,4 a

<sup>z</sup> Medias seguidas por letras diferentes dentro de cada fila difieren estadísticamente ( $p \leq 0,05$ )

En nuestras condiciones de estudio, el cuajado de flores sin polinización y autopolinizadas fue muy similar en los dos años. Esto coincide con Moriya et al. (2005) quien reporta que, en varios cultivares de pera europea, entre ellos 'Williams' no obtuvo diferencias entre el cuajado de frutos provenientes de flores sin polinizar y autopolinizadas, o incluso en algunos años el cuajado de frutos del tratamiento sin polinizar fue mayor que el autopolinizado, sugiriendo que la partenocarpia podría ser de tipo autónoma y/o estimulativa, dependiendo de las condiciones del año. Si tomamos sólo los resultados del año 2015 el cuajado fue menor, independientemente del tratamiento de polinización. La causa pudo haber sido la baja acumulación de horas de frío, lo que conlleva a una menor calidad de la flor, disminuyendo de esta manera el proceso de fructificación. Esta variable climática afectó severamente al cultivar 'Williams', que ha tenido un comportamiento productivo errático, correlacionado directamente con la falta de horas de frío para cubrir su requerimiento.

Tamaño de fruto y presencia de semillas.

En el cultivar 'Abate Fetel', a los frutos que llegaron a la madurez se les midió el diámetro, el largo y el peso, resultando en valores similares con los dos polinizadores utilizados, no diferenciándose estadísticamente (datos no presentados). Al mismo tiempo se contabilizó la presencia de semillas en los frutos, registrándose que el 75 % de los frutos polinizados con el cultivar 'Williams precoz' presentó semillas, mientras que con el cultivar 'BP1', el porcentaje fue de 86 %. Con ambos polinizadores el 100 % de los frutos de 'Abate Fetel' cosechados presentó además rudimentos seminales. Esto indica que existió la fecundación, pero por alguna razón o mecanismo aun sin dilucidar, el embrión no prosperó. El número de

semillas presentes en los frutos varió entre 1 y 8, con un promedio de 4 semillas por fruto. Esto concuerda con la bibliografía en cuanto a que un sólo óvulo fecundado sería estímulo suficiente para el cuajado del fruto (Moriya et al. 2005, Sanzol, 2001). En este caso el tamaño de fruto no se correlacionó con el número de semillas por fruto ( $r=0.015$ ). En el cultivar 'Williams' en ambos años los resultados fueron similares a lo determinado en el cultivar 'Abate Fetel'. El tratamiento de polinización cruzada es el único tratamiento que presentó frutos con semillas en relación con los frutos provenientes de la autopolinización y de la emasculación. Los frutos de 'Williams' provenientes de flores autopolinizadas, presentaron sólo rudimentos seminales, sin observarse semillas. Los frutos que fueron cosechados en el momento de madurez comercial (año 2017), presentaron resultados levemente diferentes en lo que respecta al diámetro y peso. Aunque no se registraron diferencias significativas, aquellos provenientes de flores autopolinizadas y de polinización cruzada, tendieron a presentar mayores valores que los frutos de flores sin polinizar.

#### 4. Discusión

La germinación de los granos de polen en los cultivares 'Abate Fetel' y 'Williams' coincide con lo reportado por Kuroki et al. (2016), evaluado en varios cultivares de peral, entre ellos el cultivar 'Williams' y asociado a las condiciones ambientales. La capacidad de germinación del polen varió según la temperatura, cuando los granos de polen se incubaron por 5 horas a 12 °C el porcentaje de germinación fue 35 %, y el porcentaje máximo (88 %), se alcanzó a temperaturas entre 17 °C y 20 °C. Por el contrario, con valores de temperatura de 7,5 °C el porcentaje de germinación fue 0 %, y cuando la temperatura aumentó a 10 °C, el porcentaje de germinación fue de

8,5 % (Kuroki et al. 2016). Tomando en cuenta los datos de temperatura media de la primavera en nuestras condiciones para los años de estudio, este no debería haber sido un factor limitante de la germinación de los granos de polen en el estigma de las flores (datos no presentados). No se descarta la posibilidad de que en primaveras en las que se registren bajas temperaturas, menores a 12° C por varios días, este factor pueda ser limitante y afectar el proceso. Datos similares de porcentaje de germinación de polen se dan en otras especies, Distefano et al. (2009) encontraron en cultivares de cítricos 75 % de germinación de polen de mandarina 'Fortune' en el estigma de 'Nova' (2 días después de polinizados) y más de 100 tubos polínicos alcanzaron la parte superior del estilo (Distefano et al. 2011). Mesejo et al. (2007) también encontraron que los granos de polen de mandarina 'Fortune' germinaron en estigmas de 'Clementina de Nules', Satsuma 'Owari' y naranjo dulce 'Valencia', y alcanzaron los canales estilares 2 días después de polinizados. La reacción de incompatibilidad encontrada en 'Abate Fetel' no es la única reportada dentro de los perales, Jacquemart et al. (2006), caracterizaron al cultivar "Conference" como completamente autoincompatible y por lo tanto que requiere de la polinización cruzada con polen de cultivares compatibles para desarrollar frutos con semillas. Wang et al. (2017) clasificaron el grado de incompatibilidad luego de analizar 127 cultivares de peral, proponiendo tres niveles según el recorrido del tubo polínico por el estilo. Consideraron incompatibilidad fuerte, cuando el tubo polínico no era capaz de avanzar más allá de 1/3 del recorrido estilar, intermedia cuando avanzaba de 1/3 a 2/3, y débil cuando avanzaba de 2/3 al total del estilo. Sanzol y Herrero, (2000) reportaron que en el cultivar 'Agua de

Aranjuez' en las flores autopolinizadas los estigmas tenían gran cantidad de granos de polen germinados y los tubos polínicos crecían en a lo largo de la primera mitad del estilo, donde la mayoría detenía su crecimiento, presentando una típica reacción de autoincompatibilidad. Por el contrario, los mismos autores analizaron el cruzamiento del cultivar 'Agua de Aranjuez' con el cultivar 'Castell', y encontraron que los tubos polínicos alcanzaron la base de estilo y un 47 % de los óvulos presentaron tubos polínicos en la nucela, teniendo el 100 % de las flores al menos un óvulo fecundado. La capacidad partenocárpica del cultivar 'Williams' fue propuesta como consistente frente a condiciones ambientales favorables, en especial aquellas que afectan la polinización (Griggs y Iwakiri, 1954; Ravaglia, 1991). Esta propiedad de 'Williams' probablemente contribuye a la mejor adaptabilidad y constancia en la producción. Sin embargo, los mismos autores plantearon que el cuajado solamente partenocárpico no sería suficientemente confiable y estable durante los años. Por este motivo recomiendan la implantación de montes de 'Williams' asociados a otras variedades polinizadoras como 'Decana del Comizio', 'Conference' y 'Packham's Triumph' entre otras (Ravaglia, 1991). La diferencia de cuajado entre los frutos de polinización cruzada y los sin polinizar y autopolinizados, podría estar explicada por variaciones en el contenido hormonal en los ovarios. Las giberelinas y citoquininas son consideradas reguladores de crecimiento favorables al desarrollo del fruto. Las giberelinas han sido reportadas como promotoras del cuajado, tanto en variedades con semillas donde éstas son el principal sitio de síntesis, como en las variedades de alto índice partenocárpico en las cuales son las paredes del ovario las que cumplen esta función (Sanzol et al., 2001). La capacidad de fosa de los frutos

con semillas es mayor a la de los frutos partenocárpicos, explicado en cítricos principalmente por un mayor contenido endógeno de giberelinas (Talón et al. 1992; Bermejo et al. 2016). En especies autocompatibles la fecundación de los óvulos con su propio polen genera un porcentaje de aborto de embriones mayor, en comparación con la fecundación por polinización cruzada. Esto sugiere la presencia adicional de una o más barreras reproductivas post cigóticas que bloquean la formación de semillas autopolinizadas (Martin y Lee, 1993). Esto podría estar explicando que los frutos de 'Williams' provenientes de flores autopolinizadas, presentaron sólo rudimentos seminales, sin observarse semillas. Moriya et al. (2005) reportó para varios cultivares de pera europea, entre ellos 'Williams', que los frutos provenientes de autopolinizaciones no presentaban semillas y por lo tanto no debería considerarse un cultivar compatible. En términos generales, a excepción de cítricos y uvas, se considera más favorable para la producción de frutos de calidad, que todos los óvulos de una flor sean fecundados y se formen semillas. Esto estaría indicando que a mayor número de semillas en desarrollo se liberan más hormonas vegetales como auxinas y giberelinas, que provocan la expansión del ovario, por lo que la fruta crece más en las regiones donde se encuentran las semillas fertilizadas (Claessen et al. 2019). Una posible respuesta a la ausencia de semillas en los frutos de 'Williams' provenientes de flores autopolinizadas podría ser un mecanismo de autoincompatibilidad expresado post-fecundación, no determinado en este estudio, ya que no se contemplaba dentro de las hipótesis de trabajo. En las condiciones de producción de perales comerciales en Uruguay, la mayoría de los montes son monovariaetales, sin cultivares polinizadores y en los casos

en los que se ocurre, es con baja presencia de éstos. En tal sentido, uno de los problemas que es posible que ocurra frecuentemente es la reducida actividad de las abejas y de cultivares polinizantes compatibles y sincronizados con sus floraciones. En general la polinización libre en el cultivo de pera da como resultado un número muy bajo de polen depositado en los estigmas de las flores, debido a que la flor de pera es poco atractiva para las abejas por su bajo contenido de néctar (Konarska et al. 2005; Jacquemart et al. 2006). Los eventos de polinización repetidos en una misma flor son raros en las condiciones naturales del cultivo, dado que es poco probable que los insectos polinizadores vuelvan a visitar una flor (Giurfa, 1996; Witjes y Eitz, 2007; Wilms y Eitz, 2008). Al bajo número de granos de polen recién mencionado, se agrega además que, en el cultivo de pera, el polen que alcanza el estigma consiste principalmente del propio polen del cultivar, especialmente considerando el hecho de que los insectos polinizadores en los montes de perales suelen visitar varias flores del mismo árbol, más aún en ausencia de cultivares polinizantes, como se da en nuestras condiciones.

## 5. Conclusiones

En las condiciones analizadas en este trabajo podemos concluir que el cultivar de pera 'Abate Fetel' presentó un sistema de autoincompatibilidad de tipo gametofítico, deteniendo el crecimiento de su tubo polínico en la primera mitad del estilo. En ausencia de polinización cruzada el cuajado fue nulo, demostrando no tener capacidad partenocárpica. En condiciones de polinización cruzada con los cultivares 'Williams precoz' y 'BP1', se incrementó notablemente el porcentaje de cuajado. En dichas condiciones, el porcentaje de frutos

con semillas fue de 75 % y 86 % respectivamente, presentando un promedio de 4 semillas por fruto. El cultivar 'Williams' demostró tener capacidad partenocárpica en ausencia de polen compatible y además logró formar frutos en autopolinización. En condiciones de polinización cruzada con el cultivar 'Packham's Triumph' el porcentaje de cuajado fue 40 %, siendo éste significativamente mayor que el cuajado obtenido por autopolinización o sin polinización. El porcentaje de frutos con semillas fue de 100 % en condiciones de polinización cruzada, con un promedio de 7 semillas por fruto. Si bien 'Williams' es capaz de producir frutos partenocárpicos

en condiciones de autopolinización, la utilización de cultivares polinizantes aumentaría el cuajado final de fruta.

## Referencias

1. Abrol D. 2012. Pollination biology, biodiversity conservation and agricultural production. Dordrecht, Springer. 792 p.
2. Agustí M. 2010. Fruticultura. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. 507 p.
3. Agustí M. 2004. Fruticultura. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. 493 p.
4. Agustí M, Martínez-Fuentes A, Mesejo C, Juan M, Almela V. 2003. Cuajado y desarrollo de frutos Cítricos. Valencia. Generalitat Valenciana, Conselleria D'Agricultura, Peixca I Alimentació. Sèrie Divulgació Tècnica (55). 80 p.
5. Cerovic R, Fotirić Akšić, M, Meland, M. 2020. Success Rate of Individual Pollinizers for the Pear Cultivars "Ingeborg" and "Celina" in a Nordic Climate. *Agronomy* 10 (7): 970-987. doi.org/10.3390/agronomy10070970.
6. Chao CC T, Fang J, Devanand PS. 2005. Long distance pollen flow in mandarin orchards determined by AFLP markers-implications for seedless mandarin production. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 130 (3): 374-380.
7. Chițu V, Braniste N, Militaru M, Chițu E. 2011. Effect of treatment with prohexadione-Ca product on pear fruits shelf life. *Acta Horticulturae*. 981, 573-580. doi: 10.17660/ActaHortic.2013.981.92
8. Claessen H, Keulemans W, Van de Poel B, De Storme N. 2019. Finding a compatible Partner: Self-Incompatibility in European Pear (*Pyrus communis*); Molecular Control, Genetic Determination, and Impact on Fertilization and Fruit Set. *Frontier Plant Science*. (10):407. doi: 10.3389/fpls.2019.00407
9. De Franceschi P, Dondini L, Sanzol J. 2012. Molecular bases and evolutionary dynamics of self-incompatibility in the Pyrinae (Rosaceae). *Journal of Experimental Botany*. 63 (11): 4015-4032. doi:10.1093/jxb/ers108
10. Distefano G, Hedhly A, Las Casas G, La Malfa S, Herrero M, Gentile A. 2012. Male-female interaction and temperatura variation affect pollen performance in Citrus. *Scientia Horticulturae* 140: 1-7.
11. Distefano G, Gentile A, Herrero M.

2011. Pollen-pistil interactions and early fruiting in parthenocarpic citrus. *Annals of Botany* 108: 499-509.
12. Distefano G, Las Casas, G, La Malfa S, Gentile A, Tribulato E. 2009. Pollen tube behavior in different mandarin hybrids. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 134 (6): 583-588.
13. Dumas C, Knox RB. 1983. Callose and determination of pistil viability and incompatibility. *Theoretical and Applied Genetics* 67: 1-10.
14. Dussi M. 2011. Sustainable Use of Plant Bioregulators in Pear Production. En: *International Pear Symposium (11th, 2010, Patagonia, Argentina)*. *Acta Horticulturae* 909: 353-367.
15. Egea J, Burgos L. 1992. Effective pollination period as related to stigma receptivity in apricot. *Scientia Horticulturae*, 52, (1-2): 77-83. doi: 10.1016/0304-4238(92)90010-A
16. Ferree DC. 1989. Influence of orchard management systems on spur quality, light and fruit within the canopy of "Golden Delicious" apple trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 114(6): 869-875.
17. Fleckinger J. 1965. Stades repérés des Pomacées. Les champignons parasites del arbres fruitiers a pepins. Coll. G.: Viennot-Bourginn, I.
18. Frost HB, Soost RS. 1968. Seed reproduction: development of gametes and embryos. In: Reuther, W.; Batchelor, L. D.; Webber, H. J. *The citrus industry*. Berkeley, University of California 2(4): 290-319.
19. Gambetta G, Gravina A, Fasiolo C, Fornero C, Galiger S, Inzaurrealde C, Rey F. 2013. Self-incompatibility, parthenocarpy and reduction of seed presence in 'Afourer' mandarin. *Scientia Horticulturae* (164): 183-188. doi:10.1016/j.scienta.2013.09.002
20. Gil-Albert F. 1989. *Tratado de arboricultura frutal (I)*. Madrid: Mundi-Prensa Libros. 232 p.
21. Giurfa M. 1996. Movement patterns of honeybee foragers: motivation and decision rules dependent on the rate of reward. *Behaviour* 133: 579-596.
22. Goldraij A, Kondo K, Lee C.B, Hancock, CN, Sivaguru M, Vazquez-Santana S. (2006). Compartmentalization of S-RNase and HT-B degradation in self-incompatible Nicotiana. *Nature* 439: 805-810.
23. González MV, Coque M, Herrero M. 1995. Stigmatic receptivity limits the effective pollination period in Kiwi fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 120 (2): 199-202. doi: 10.21273/JASHS.120.2.199
24. Gravina A. 1999. Ciclo fenológico-reproductivo en citrus, bases fisiológicas y manejo. Montevideo, Facultad de Agronomía. CSIC. 55 p.
25. Greene DW. 1980. Effect of silver nitrate, aminoethoxyvinylglycine and gibberellins A4+7 plus 6-benzylaminopurine on fruit set and development of 'Delicious' apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 105: 717-720.
26. Griggs WH, Iwakiri BT. 1954. Pollination and parthenocarpy in the production of Bartlett pears in California. *Hilgardia* 22: 643-678.
27. Heng W, Wu HQ, Huang SX, Zhang SJ, Wu J, Fang CQ, Zhang SL. 2008. Identification of S-genotypes and novel S-RNases in native Chinese pear. *The Journal of Horticultural Science and*

- Biotechnology 83: 629-634.
28. Herrero M, Arbeloa A. 1989. Influence of the pistil on pollen tube kinetics in peach (*Prunus persica*). *American Journal of Botany* 76 (10): 1441-1447.
29. Herrero M. 1983. Factors affecting fruit set in 'Agua de Aranjuez' pear. *Acta Horticulturae* (139): 91-96.
30. Hiratsuka S, Zhang SL. 2002. Relationships between fruit set, pollen-tube growth, and S-RNase concentration in the self-incompatible Japanese pear. *Scientia Horticulturae* 95: 309-318.
31. Jacquemart AL, Michotte-Van der Aa A, Raspé O. 2006. Compatibility and pollinator efficiency tests on *Pyrus communis* cv. 'Conference'. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 81: 827-830.
32. Koltunow AM, Soltys K, Nito N, McClure S. 1995. Anther, ovule, seed, and nucelar embryo development in *Citrus sinensis* cv. Valencia. *Canadian Journal of Botany* 73: 1567-1582.
33. Konarska A, Masierowska M, Weryszko-Chmielewska E. 2005. The structure of nectaries and nectar secretion in common pear (*Pyrus communis* L.). *Journal of Apicultural Science* 49: 85-92.
34. Kramer S, Achuricht R, Firedrich G. 1982. *Fruticultura*. Mexico: Compañía Editorial Continental. 276 p.
35. Kuroki K, Takemura Y, Mingfeng J, Marumori H, Teratani N, Matsumoto K, Matsumoto T, Tamura F. 2016. Pear pollen selection using higher germination properties at low temperatures and the effect on the fruit set and quality of Japanese pear cultivars. *Scientia Horticulturae* 216: 200-204. doi: 10.1016/j.scienta.2017.01.013.
36. Luu DT, Qin X, Morse D. 2000. S-RNase uptake by compatible pollen tubes in gametophytic self-incompatibility. *Nature* 407, 649-651. <https://doi.org/10.1038/35036623>
37. Martin ME, Lee TD. 1993. Self pollination and resource availability affect ovule abortion in *Cassia fasciculata* (Caesalpiniaceae). *Oecologia* 94: 503-509.
38. McClure BA, Gray JE, Anderson MA, Clarke AE. 1990. Self-incompatibility in *Nicotiana glauca* involves degradation of pollen Rna. *Nature* 347: 757-760.
39. Mesejo C, Yuste R, Martínez-Fuentes A, Reig C, Iglesias DJ, Primo-Millo E, Agustí M. 2013. Self-pollination and parthenocarpic ability in developing ovaries of self-incompatible Clementine mandarins (*Citrus Clementina*). *Physiologia Plantarum* 148: 87-96.
40. Mesejo C. 2007. El control de la polinización cruzada en los cítricos. Tesis Doctoral. Valencia, España. Universitat Politècnica de València. 120 p.
41. Mesejo C, Martínez-Fuentes A, Reig C, Agustí M. 2007. The effective pollination period in 'Clemenules' mandarin, 'Owari' Satsuma mandarin and 'Valencia' sweet orange. *Plant Science* 173 (2): 223-230. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2007.05.009>.
42. MGAP. DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Estadísticas Agropecuarias). 2020. Anuario 2020. Montevideo, Uruguay. 270p.
43. Miranda C. 2010. Polinización y cuajado en árboles frutales. Departamento de Producción Agraria. Sección de Fruticultura y Viticultura. Universidad Pública de Navarra. España. 24p.
44. Miranda C, Santesteban LG, Royo JB. 2005. Influence of reproductive impairment

- of most developed flowers on fruit set and fruit quality in pear. *Hortscience*. 40 (5): 1276-1279.
45. Monzón VH, Bosch J, Retana J. 2004. Foraging behavior and pollinating effectiveness of *Osmia cornuta* (Hymenoptera: Megachilidae) and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) on "Comice" pear. *Apidologie* 35: 575-585. doi: 10.1051/apido:2004055.
46. Moriya Y, Takai Y, Okada K, Ito D, Shiozaki Y, Nakanishi T, Takasaki T. 2005. Parthenocarpy and self- and cross-incompatibility in ten European pear cultivars. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 74: 424-430.
47. Nasrallah JB, Stein JC, Kandasamy MK, Nasrallah ME. 1998. Signaling the arrest of pollen tube development in self-incompatible plants. *Science* 266 (5190): 1505-1508.
48. Nishitani C, Yamaguchi-Nakamura A, Hosaka F, Terakami S, Shimizu T, Yano K, Itai A, Saito T, Yamamoto T. 2012. Parthenocarpic genetic resources and gene expression related to parthenocarpy among four species in pear (*Pyrus* spp.). *Scientia Horticulturae* 136: 101-109. doi:10.1016/j.scienta.2011.12.029.
49. Nyéki J, Soltész M, Iváncsics J. 2000. Self fertility of pear varieties conditioned by natural self pollination (autogamy). *International Journal of Horticultural Science*, 6(1), 110–113. <https://doi.org/10.31421/IJHS/6/1/79>
50. Nyéki J, Soltész M. 1998. The variation of seed content of fruits in pear varieties, also as function of different conditions of fertilization, as open pollination, natural autogamy and allogamy. En: *International Pear Symposium (VII, 1998, Talca, Chile)*. *Acta Horticulturae* 475. 237-250  
doi: 10.17660/ActaHortic.1998.475.30
51. Nyéki J, Soltész M, Iváncsics J. 1998. Natural tendency to parthenocarpy of pear cultivars in Hungary. En: *International Pear Symposium (VII, 1998, Talca, Chile)*. *Acta Horticulturae* 475. 367–378. doi: 10.17660/ActaHortic.1998.475.30
52. Pardo E, Borges A, Gravina A. 2010. Relación entre tamaño de fruto y número de semillas en mandarina 'Afourer'. In: *Simposio de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Citrus (3º, 2010, Salto, Uruguay)*. Trabajos presentados. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 68-71.
53. Pöhlman JM, Sleper DA. 2003. Mejoramiento genético de las cosechas. 2ª. ed. México, Limusa. 511 p.
54. Qi YJ, Wang YT, Han YX, Qiang S, Wu J, Tao ST. 2011. Self-compatibility of "Zaoguan" (*Pyrus bretschneideri* Rehd.) is associated with style-part mutations. *Genetica* 139: 1149-1158.
55. Quinet M, Warzée M, Vanderplanck M, Michez D, Lognay G, Jacquemart AL. 2016. Do floral resources influence pollination rates and subsequent fruit set in pear (*Pyrus communis* L.) and apple (*Malus x domestica* Borkh) cultivars. *European Journal of Agronomy* 77. 59-69. doi:10.1016/j.eja.2016.04.001
56. Ravaglia G. 1991. Partenocarpia, forma e caratteri biometrici dei frutti in "William" (*Pyrus communis* L.). *Rivista di Frutticoltura*. (11): 81-84.
57. Rom C, Barrit B. 1987. Management of apple fruiting and shading of spurs and shoots on spur performance. *Journal of American Society for Horticultural Science*. 111:352-356.
58. Royo JB, Miranda C, Santesteban G. 2009. Determinación precoz de la producción potencial de plantaciones de

- peral. *Vida Rural* 295: 36-40.
59. Sánchez E, Curetti M, Retamales, J. 2011. Effect of AVG application on fruit set, yield and fruit size in 'Abate Fetel' and 'Packam's Triumph' pears in a semi-commercial statistical trial. En: International Pear Symposium (11th, 2010, Patagonia, Argentina). *Acta Horticulturae* 909: 435-440.
60. Sanzol J, Herrero M. 2007. Self-incompatibility and self-fruitfulness in pear Cv. Agua de Aranjuez. *Journal of American Society for Horticultural Science* 132: 166-171.
61. Sanzol J, Herrero M. 2002. Identification of self-incompatibility alleles in pear cultivars (*Pyrus communis* L.). *Euphytica* 128: 325-331.
62. Sanzol J. 2001. Mecanismos reproductivos que regulan la fructificación en peral (*Pyrus communis* L.) cv. "Agua de Aranjuez". Tesis Doctoral. Navarra, España. Universidad Pública de Navarra. 202 p.
63. Sanzol J, Herrero M. 2001. The "effective pollination period" in fruit trees. *Scientia Horticulturae* 90 (1-2): 1-17.
64. Shaoling Z, Jigun Y, Xiugen L, Hiratsuka S, Wolukau J. 2002. Differences of S-glycoprotein content in the styles among pear cultivars differing in self-incompatible strength. *Acta Horticulturae*. Sin. 29: 165-167.
65. Soltész M. 1997. Laws of bloom phenology by apple. *Acta Horticulturae*. 437: 451-456. doi: 10.17660/ActaHortic.1997.437.61
66. Sozzi GO. 2007. Árboles frutales, ecofisiología, cultivo y aprovechamiento. Buenos Aires, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. 848 p.
67. Tadeo FR, Moya JL, Iglesias DJ, Talón M, Primo-Millo E. 2003. Histología y citología de cítricos. Valencia, Generalitat Valenciana, Conselleria D'Agricultura, Peixca I Alimentació. 99 p.
68. Talón M, Zacarias L, Primo-Millo E. 1992. Gibberellins and parthenocarpic ability in developing ovaries of seedless mandarins. *Plant Physiology*. 99 (4): 1575-1581. doi: 10.1104/pp.99.4.1575
69. Tassinari P, Zuccherelli S, Sansavini, S. 2004. Self pollination and fertility in european pear (*Pyrus communis* L.) cultivars. En: Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics. (XIth, 2004, Angers, France) *Acta Horticulturae*. 663: 677-680. doi: 10.17660/ActaHortic.2004.663.122
70. Theron KI, Chabikwa TG, Lötze GFA. 2011. Evaluation of 6-Benzyladenine (BA) and Naphthylacetamide (NAD) as post-bloom thinning compounds for 'Early Bon Chrétien' pear. En: International Pear Symposium (11th, 2010, Patagonia, Argentina). *Acta Horticulturae* 909: 387-393.
71. Uwate WJ, Lin J. 1981. Development of the Stigmatic Surface of *Prunus avium* L., Sweet Cherry. *American Journal of Botany*. 68 (9): 1165-1176.
72. Vardi A, Levin I, Carmi N. 2008. Induction of seedlessness in citrus; from classical techniques to emerging biotechnological approaches. *Journal of the American Society of Horticultural Science*. 133 (1): 117-126. doi:10.21273/JASHS.133.1.117
73. Wang GM, Xin Qiao, CG, Zhao BY, Ke YQ, Guo BB, Hao PP, Qi KJ, Zhang SL. 2017. Characteristic of pollen tube that grew into self style in pear cultivar and parent assignment for cross-pollination. *Scientia Horticulturae* 216: 226-233. doi:

10.1016/j.scienta.2016.10.035

74. Williams RR. 1965. The effects of summer nitrogen applications on the quality of apple blossom. *The Journal of Horticulture Science* 40: 1-34.
75. Wilms J, Eltz T. 2008. Foraging scent marks of bumblebees: footprint cues rather than pheromone signals. *Naturwissenschaften* 95: 149-153.
76. Witjes S, Eltz T. 2007. Influence of scent deposits on flower choice: experiments in an artificial flower array with bumblebees. *Apidologie* 38: 12-18.
77. Zhang C, Lee U, Tanabe K. 2008. Hormonal regulation of fruit set, parthenogenesis induction and fruit expansion in Japanese pear. *Plant Growth Regulation*, 55(3), 231–240. doi:10.1007/s10725-008-9