

UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMIA

**CUAJADO DE FRUTOS EN EL TANGOR 'ORTANIQUE' EN  
RESPUESTA A LA POLINIZACIÓN Y A DISTINTAS  
SITUACIONES DE ESTRÉS AMBIENTAL**

**ALEJANDRA BORGES MIRA**

Tesis presentada como uno de los  
requisitos para la obtención del título  
de Magíster en Ciencias Agrarias,  
Opción Ciencias Vegetales

Montevideo, Uruguay  
2008

## **AGRADECIMIENTOS**

Esta tesis es resultado de trabajo en equipo. Un equipo, que a la vez son muchos, multidisciplinarios, transversales, en los que tengo el honor y el placer de pertenecer y participar.

Al equipo de Ecofisiología de frutales y a Alfredo su director y mi tutor, antiguos compañeros de oficina y actuales amigos, con los cuales comencé mi experiencia en investigación y la maestría que está finalizando con este manuscrito. Además de aprender con ellos los ‘gajes del oficio’ y compartir eternas y amenas jornadas de laburo, aprendí a discutir y pensar juntos, y de esa forma enriquecer y potenciar lo de cada uno.

Al equipo de Estadística, actuales compañeros y también amigos, que me recibieron con este trabajo en las manos, y así me impulsaron, me sostuvieron y me regalaron tiempo de su tiempo.

A mis familias los Borges-Mira y los Piñeiro-Guerra por su incondicionalidad; creo que sin ellos no hubiera podido culminar este trabajo, o en todo caso, me hubiera sido mucho más arduo y menos placentero.

A mis viejos, que no se rinden nunca y siguen iluminando mi camino y el de mis hijos.

A mis amigos de todos lados y tiempos, patrimonio de mi humanidad.

A mi núcleo, parte central, Santi, Tomi y Nico, con ustedes, por ustedes y para ustedes, todo.

Tesis aprobada por:

Director: .....  
Nombre completo y firma

Tribunal: .....  
Nombre completo y firma

.....  
Nombre completo y firma

.....  
Nombre completo y firma

Fecha .....

Autor: .....  
Nombre completo y firma

## INDICE

1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	7
1.1. La producción citrícola en el Uruguay.....	7
1.2. El tangor Ortanique .....	7
1.3. Fisiología reproductiva en Cítricos .....	8
1.3.1. Cuajado de frutos .....	8
1.3.2. Factores endógenos que regulan el cuajado .....	9
1.3.3. Factores exógenos que regulan el cuajado .....	13
2. CUAJADO DE FRUTOS EN TANGOR ‘ORTANIQUE’ EN RESPUESTA A LA POLINIZACIÓN Y A DISTINTAS SITUACIONES DE ESTRÉS .....	19
2.1. Introducción .....	19
2.2. Materiales y Métodos .....	22
2.3. Resultados .....	28
2.3.1. Cuajado de frutos .....	28
2.3.2. Variables indicadoras de estrés .....	30
2.3.3. Efecto de la polinización sobre el cuajado .....	34
2.4. Discusión.....	37
2.5. Bibliografía.....	41
3. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES.....	46
3.1. Discusión General .....	46
3.2. Conclusiones .....	48
3.3. Bibliografía.....	50
4. RESUMEN.....	57
5. SUMMARY .....	58
6. ANEXOS.....	59

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

### Cuadros

Cuadro 1. Cuadro 1. Intensidad de floración (flores/100 nudos) y porcentaje de brotes generativos (brotes sin hojas) en tangor ‘Ortanique’ para las cuatro condiciones generadas..	28
Cuadro 2. Porcentaje de cuajado final en ramas para el experimento bajo malla (M) y sin malla (SM) y para tratamiento con riego(R) y sin riego (SR).....	28
Cuadro 3. Potencial hídrico foliar ( $\Psi_F$ ), potencial hídrico xilemático ( $\Psi_X$ ), conductancia estomática ( $g_s$ ) y temperatura de hoja (TH) medidos en hojas de árboles bajo malla (M) y sin malla (SM) y de árboles con riego (R) y sin riego (SR), según hora de medición. ....	31
Cuadro 4. Coeficiente de correlación de rangos de Spearman, entre la proporción de frutos cuajados y potencial hídrico foliar y xilemático ( $\Psi_F$ y $\Psi_X$ ), conductancia estomática ( $g_s$ ) y temperatura de hoja (TH), medidos a las 14:00hs.....	33
Cuadro 5. Porcentaje de cuajado final de brotes terminales control (C), brotes terminales emasculados (E) y brotes terminales emasculados y polinizados (EP).....	34
Cuadro 6. Número promedio de semillas por fruto correspondientes al tratamiento control (C) y emasculado y polinizado (EP) para el experimento bajo malla (M) y sin malla (SM). ....	36

### Figuras

Figura 1. Árboles cubiertos por la malla colocada en estructura horizontal .....	23
Figura 2. Porcentaje de frutos cuajados (% cuajado) en ramas marcadas, según días pos floración, para el experimento bajo malla (M) y sin malla (SM). ....	29
Figura 3. Integral de estrés (MPa.día) para $\Psi_X$ , en la mañana (1a), mediodía (1b) y tarde (1c) y para $\Psi_F$ en la mañana (2a), mediodía (2b) y tarde (2c), en cuatro condiciones: ‘MR’ malla y riego; ‘MSR’ malla sin riego; ‘SMR’ sin malla y riego y ‘SMSR’ sin malla y sin riego. ....	32
Figura 4. Proporción de cuajado de brotes emasculados y polinizados (EP) según días pos antesis, para el experimento bajo ‘M’ malla (■) y ‘SM’ sin malla (◇) y ecuación de la curva ajustada.	35

Figura 5. Porcentaje de cuajado final de frutos (%) para el tratamiento control (C), emasculado (E) y emasculado y polinizado (EP), correspondientes al experimento bajo malla (M) y sin malla (SM). .....36

## **1. INTRODUCCIÓN GENERAL**

### **1.1. La producción citrícola en el Uruguay**

Desde los años 70, la citricultura en Uruguay se ha reorientado hacia la producción de fruta fresca de exportación, fundamentalmente hacia el hemisferio norte, aprovechando las oportunidades de la contraestación (Gravina, 1999). Estos nuevos destinos de comercialización, han establecido la necesidad de incorporar nuevas variedades y técnicas de cultivo, que aseguren buenos volúmenes de producción y alta calidad de fruta en destino final, fundamentalmente calidad externa, tamaño de fruto, fácil pelado y ausencia de semillas.

Según la última Encuesta Citrícola (MGAP, 2008) la producción total de cítricos en Uruguay para 2007, alcanzó las 346.2 mil toneladas. Esta producción se obtuvo de 16.352 ha efectivas y significó un incremento de 25% en relación al año anterior. En el año 2007 se cosecharon 117 mil toneladas de mandarinas de las cuales el 40% fue para exportación. De la superficie total ocupada por cítricos, el 40% aproximadamente lo ocupan las mandarinas e híbridos. Dentro de este grupo, la variedad 'Ortanique' ocupa 483 ha efectivas, representando un 7 % del total. La mayor parte de la superficie ocupada por esta variedad está actualmente bajo riego (74%), siendo una de las variedades que alcanza el mayor porcentaje de superficie regada. Sin embargo, a pesar de contar con esta ventaja, su rendimiento es bajo, alcanzando en la última zafra, un promedio de 19 T.ha<sup>-1</sup>.

### **1.2. El tangor Ortanique**

El cultivar 'Ortanique' es un híbrido natural encontrado en Jamaica, (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Citrus reticulata* Bl.; Saunt 2000). Presenta muy buenas características comerciales de fruto, tanto externa (tamaño medio a grande, color naranja intenso, piel gruesa y a veces rugosa,) como interna (alto contenido de sólidos solubles, buen tenor de acidez, alto porcentaje de jugo). Es una variedad de maduración tardía, lo que permite ampliar la oferta de fruta para exportación. Adicionalmente, presenta buena vida poscosecha lo que la hace resistente al transporte y llega a destinos finales con buena calidad de fruta. Estas características, le permiten alcanzar buenos

precios en mercados internacionales (Gravina, 2002). En términos de características productivas, es una variedad autoincompatible, por lo que en condiciones de aislamiento, es decir lejos de variedades compatibles, produce frutos partenocárpicos, es decir sin semillas (Soler, 1999). Es importante precisar cuál debe ser este aislamiento para que los frutos no presenten semillas. Chao *et al.* (2005) a través del uso de marcadores moleculares, determinaron hasta donde puede llegar el flujo de polen a largas distancias y encontraron que en algunas variedades como ‘Afourer’ el polen se dispersó hasta 900 metros llegando a polinizar flores de mandarina ‘Clementina’.

A nivel nacional, se ha caracterizado a ‘Ortanique’ como una variedad de tipo improductivo, si no se la maneja adecuadamente (Espino *et al.*, 2005). Este comportamiento se caracteriza por presentar altas intensidades de floración, con baja relación fuente:fosa, que se traducen en bajos porcentajes de cuajado (Arias *et al.*, 1996).

Presenta bajo índice de partenocarpia natural, por lo que aún en bajas intensidades de floración el cuajado final de frutos es bajo. Sin embargo, en condiciones de libre polinización con variedades compatibles, se ha observado buen comportamiento productivo (Carrau, 1993). Es polinizada por un gran número de variedades y especies (pomelo, limón, naranja, mandarina), mediante polinización entomófila (fundamentalmente abejas) llegando a presentar más de 30 semillas por fruto (Soler, 1999). La presencia de semillas es una característica que puede excluirla de los mercados exigentes, por lo que el incrementar su productividad en condiciones de partenocarpia se presenta como un desafío tecnológico para el sector.

### **1.3. Fisiología reproductiva en Cítricos**

#### **1.3.1. Cuajado de frutos**

El cuajado comprende una serie de eventos a nivel celular y de desarrollo, y en sentido amplio, involucra el desarrollo del ovario y la ‘decisión’ de abortar o continuar con el desarrollo del fruto (Gillaspy *et al.*, 1993). En esta fase se observa una abscisión masiva de flores y frutos, que



comienza en floración y se extiende durante varias semanas hasta el fin de la caída fisiológica (Talón, 1997).

Los frutos cítricos presentan tres fases de crecimiento y desarrollo. La fase I, donde los frutos crecen por división celular, puede durar entre dos y tres meses, dependiendo de la variedad y el año. La fase II, es la etapa de crecimiento rápido del fruto, en la cual el fruto crece principalmente por elongación celular y la fase III, donde el crecimiento se detiene y el fruto madura (Talón, 1997). El cuajado coincide con la fase I y finaliza con la transición a la fase II. En este período se identifican dos ondas de caída importantes, que frecuentemente se solapan, alcanzando su máxima tasa de abscisión: al comienzo de fase I (entre 3 y 4 semanas pos antesis) y hacia el final de fase I y transición a fase II, entre 6 y 7 semanas pos antesis (Talón *et al.*, 2000). Para el caso de ‘Ortanique’ en nuestro país, el cuajado se extiende por un período aproximado de 90 días, concentrándose la mayor caída entre los 30 y 70 días pos floración (da Cunha Barros y Gravina, 2006).

La posibilidad de cuajar de un fruto se determina por distintos mecanismos de control, tanto endógenos (relativo a balances nutricionales y hormonales de la planta) como exógenos (fundamentalmente factores climáticos).

### **1.3.2. Factores endógenos que regulan el cuajado**

Los principales reguladores endógenos de este proceso, dependen de las características varietales y de factores nutricionales y hormonales en referencia a la disponibilidad de carbohidratos en la planta y a la capacidad competitiva por nutrientes y agua de esos frutos, respectivamente (Agustí *et al.*, 2003).

En una primera etapa, el éxito en el cuajado de frutos se ha relacionado más a aspectos hormonales, fundamentalmente a los niveles endógenos de giberelinas activas en ovarios en desarrollo (Guardiola, 1992; Talón *et al.*, 1999, Mehouchi *et al.*, 2000), constatándose una relación alta entre éstas y el cuajado de diferentes variedades de citrus.

En una segunda etapa, el cuajado de frutos depende, fundamentalmente, de la disponibilidad de carbohidratos, a través de un mecanismo autorregulado, que ajusta el número de frutos a la capacidad del árbol de suministrar metabolitos y agua a las estructuras en desarrollo (Goldschmidt y Monselise, 1977; Guardiola, 1988; Ruiz *et al.*, 2001). El costo energético diario de la floración puede exceder inclusive la producción diaria de carbohidratos por las hojas (Bustan y Goldschmidt, 1998).

Iglesias *et al.* (2003), mediante defoliaciones y suplementación de sacarosa a través inyecciones al tronco, demuestran la dependencia del cuajado de la disponibilidad de carbohidratos, proponiendo que éstos no actúan solamente como nutrientes sino también como disparadores de un proceso hormonal (Gomez-Cadenas *et al.*, 2000). Algunos autores plantean la ‘hipótesis de competencia’: los frutos en desarrollo que no alcanzan un cierto nivel de fotoasimilados entran en la vía metabólica que conduce a la abscisión. Los parámetros sensibles serían los niveles de sacarosa y la relación sacarosa:hexosas, y el ‘sensor’ de la intensidad del déficit nutricional, sería el ácido abscísico (ABA). Incrementos en ABA, modulan los niveles del 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC), que a su vez determina los niveles de etileno, activador hormonal de la abscisión (Mehouachi *et al.*, 2000; Talón *et al.*, 2000).

El cuajado de los frutos puede ser consecuencia de la polinización y fecundación o de la habilidad partenocárpica de la variedad, produciendo frutos sin semillas. En el caso de variedades con semilla, la decisión de cuajar depende de que se complete con éxito la polinización y fecundación. La presencia de óvulos fertilizados en el ovario desencadenan el desarrollo del frutito, a través de señales positivas de crecimiento, generadas durante y/o luego de la polinización (Gillaspy *et al.*, 1993). Estos autores plantean que el polen produce estímulos de crecimiento, en particular hormonas, como auxinas y giberelinas. Las giberelinas producidas por el polen, podrían tener un rol en el aumento de la producción de auxinas en el ovario, las que a su vez estarían actuando como señal para la reactivación de la división celular y por tanto para el cuajado inicial. Ben Cheikh *et al.* (1997), en una variedad de naranjo dulce autocompatible, observaron un incremento de GA<sub>1</sub>, inducido por la polinización y fecundación, inmediatamente después de anthesis. En este trabajo, también encontraron que la emasculación de flores o

aplicaciones de Paclobutrazol (inhibidor de la síntesis de giberelinas) causó una rápida abscisión de ovarios, alcanzando inclusive el 100% de los mismos.

En el caso de variedades autoincompatibles, si no son polinizadas por variedades compatibles, éstas producen frutos sin semillas. Las causas de la autoincompatibilidad pueden variar según cultivares y las más frecuentes en los cítricos pueden ser la esterilidad gamética masculina o femenina y la esterilidad homogenética gametofítica (Iglesias *et al.*, 2007). Si bien no se conoce con exactitud cual es el mecanismo en el caso de ‘Ortanique’ se sugiere el de la esterilidad homogenética gametofítica (más frecuente en frutales), por no presentar esterilidad gamética ni citológica. En el caso de la esterilidad homogenética gametofítica, la incompatibilidad es controlada por un solo alelo S presente en el grano de polen haploide, esto significa que el grano de polen crecerá en cualquier pistilo que no contenga el mismo alelo (Kimball, 2005). En estos casos, el sitio de inhibición es el estilo, por lo que el grano de polen puede germinar y el tubo polínico comienza su crecimiento hasta que es detenido (Brewbaker, 1957).

En un estudio en tangelo ‘Orlando’ se comparó el desarrollo del tubo polínico en autopolinizaciones (incompatibles) y de polinizaciones cruzadas con polen de mandarina ‘Dancy’ (compatibles). En la polinización incompatible, se observaron depósitos irregulares de calosa en las paredes del tubo polínico 1 día después de la polinización. En el sexto día, los tubos polínicos se encontraban en la porción superior del ovario en el cruzamiento compatible, mientras que la mayoría de los tubos polínicos incompatibles se encontraban aún en la parte superior del estilo. Estos últimos, a los 6 días de polinizados cesaron su crecimiento (Kahn y DeMason, 1988). Resultados similares se reportaron en diez variedades de cítricos autoincompatibles (Ngo, 2001). Pero este trabajo, agrega resultados muy interesantes a los mencionados previamente. Es importante poder dilucidar en qué momento se establecen los mecanismos de autoincompatibilidad. En este trabajo se polinizaron las flores en diferentes momentos y los resultados son sugerentes: cuando las flores se polinizaron entre 2 días antes y 2 días después de anthesis, su crecimiento se detuvo en el estilo, mientras que aquellos polinizados de 4 a 6 días antes de anthesis, los tubos alcanzaron el ovario. Estos resultados sugieren a los autores que la autoincompatibilidad se inicia en el pistilo 6 días antes de anthesis y se va incrementando hasta el día de en que se da la apertura floral.

Gómez *et al.* (2004) analizaron el crecimiento del tubo polínico en cuatro cultivares de mandarinas, para determinar grados de compatibilidad. En autopolinizaciones, el crecimiento de los tubos polínicos varió mucho entre cultivares. Mientras que en los cultivares ‘Dancy’ y ‘Reyna’ una gran proporción de tubos polínicos presentes en el estilo penetraron la pared del ovario, sólo un número muy pequeño de tubos lo alcanzó en ‘Mónica’ y ninguno en ‘Satsuma’. En estos dos últimos cultivares, ningún tubo polínico logró penetrar los lóculos, indicando la autoincompatibilidad de los dos últimos cultivares

En las variedades sin semilla, la capacidad partenocárpica es variable, y en función de esto, los cultivares se pueden clasificar como de tipo productivo o improductivo (Guardiola, 1992). El cuajado en estas variedades, está principalmente influenciado por el status hormonal de los frutos durante su desarrollo. Así, la baja capacidad de producir frutos partenocárpicos en variedades improductivas, parece estar asociada a bajos niveles de giberelinas activas, baja capacidad de catabolizar el ABA y a una alta capacidad de conjugar auxinas (IAA) durante este período (Talón *et al.*, 1990).

En algunas de las variedades autoincompatibles, se ha observado que la polinización con polen de la propia variedad, mejora el cuajado de frutos (Mesejo *et al.*, 2004), sugiriendo una partenocarpia estimulada. Como ya se ha mencionado, en varias especies se ha constatado la presencia de giberelinas activas (principalmente GA<sub>3</sub>) en los tubos polínicos y estos promotores de crecimiento podrían moverse hasta el óvulo, estimulando su crecimiento (Kamienska y Pharis, 1975; Herrero, 1992). En el caso de las variedades que presentan esterilidad homogenética gametofítica, como podría ser ‘Ortanique’ la germinación y crecimiento del tubo polínico en el estilo, podría favorecer la llegada de promotores de crecimiento presentes en el polen hasta el óvulo. En este sentido, varios investigadores plantean que el crecimiento y desarrollo del ovario, puede ser estimulado por la aplicación exógena de giberelinas y la aplicación de extractos de polen. Además de las giberelinas ya citadas, Gustafson (citado por Herrero, 1992) identificó uno de esos compuestos como una auxina. Los granos de polen y los tubos polínicos secretan estas hormonas, que podrían ser translocadas al óvulo, independientemente de que se produzca la fecundación.

### 1.3.3. Factores exógenos que regulan el cuajado

Los factores exógenos que determinan este proceso son temperatura y radiación (Talón *et al.*, 1999) y/o régimen hídrico (Bower, 2000; Erner, 2000). Cualquier cambio en las condiciones ambientales que afecte el óptimo de la tasa de crecimiento de una planta puede ser considerado como un estrés (Salisbury y Ross, 1994). Condiciones de alta temperatura y radiación, así como un déficit hídrico en este período, promoverían la abscisión de frutos.

#### *Luz y temperatura*

La cantidad de energía radiante que llega a las plantas y a las hojas en particular, es un factor determinante del proceso fotosintético, que puede traducirse en ganancia o pérdida de las reacciones fotosintéticas (Gonçalves de Oliveira, 2005). En condiciones de alta radiación, puede ocurrir fotoinhibición, que resulta cuando la energía recibida excede la capacidad de absorción y disipación de la energía por el sistema fotosintético. En presencia de algún otro factor de estrés - como el estrés hídrico-, este proceso puede verse estimulado (Blanke, 2000), pudiéndose observar a casi cualquier nivel de luz y en cualquier planta, dependiendo de la historia y adaptación previa de las plantas a la luz. Existen varios factores que pueden promover la fotoinhibición, como la acumulación de carbohidratos (Rivas *et al.*, 2008), la estación del año (primavera), la hora del día (mediodía), el ángulo (horizontal) y la edad de la hoja (joven) y la posición de la hoja en el árbol (periférica), entre otros.

Altas intensidades de luz pueden catalizar procesos fotooxidativos, por la síntesis de especies reactivas del oxígeno (ROS) que dañan la integridad y funcionalidad celular. En respuestas a condiciones fotoinhedoras, se puede observar una disminución de la eficiencia de liberación del oxígeno, alteraciones en las reacciones fotoquímicas asociadas a la clorofila a y pérdida de la integridad de membranas cloroplastídicas (Gonçalves de Oliveira, 2005). El fotosistema II (PS<sub>II</sub>) es el centro fotosensible regulador más importante de la actividad fotosintética (Azcon-Bieto y

Talón, 2008) donde se pueden observar daños funcionales por fotoinhibición en el transporte de electrones y daño estructural de la proteína D1.

En un trabajo con plantas de *Nerium oleander* L. bajo condiciones de estrés hídrico en diferentes regímenes de luz, se verificó una fuerte interacción entre la luz y el estado hídrico de la planta en el proceso de fotoinhibición (Björkman y Powles, 1984). En plantas bajo estrés hídrico que se mantuvieron a 3% de plena luz, la actividad de transporte de electrones en los cloroplastos no se vio afectada hasta que las hojas alcanzaron un potencial hídrico de -3.0 MPa y el grado de inhibición fue mucho menor, respecto de plantas en la misma situación de estrés hídrico mantenidas a plena luz. Se pudo constatar una menor capacidad de captación de CO<sub>2</sub> a saturación de luz y un menor rendimiento cuántico. En este sentido, también constataron una fuerte disminución de la fluorescencia máxima y variable de la clorofila a (F<sub>M</sub> y F<sub>V</sub> respectivamente) emitida por la superficie de las hojas expuestas al sol. La fluorescencia es una emisión de energía que realizan las clorofilas en forma de una luz de mayor longitud de onda que la que absorben, para reducir su estado excitado y de esa forma disipar la energía en condiciones de exceso de luz (Azcon-Bieto y Talón, 2008). Por lo tanto, una reducción en la fluorescencia máxima y variable, está indicando que la energía no se está disipando correctamente y por lo tanto pueden ocurrir daños en el aparato fotosintético.

Condiciones de altas intensidades de luz, pueden estar acompañadas de altas temperaturas en los meses de primavera y verano. Muchas veces es difícil separar o distinguir el efecto de una excesiva radiación del efecto de la temperatura sobre algunos procesos como puede ser la fotosíntesis. Yan-Ping *et al.* (2006) exponiendo hojas de mandarina 'Satsuma' y naranja 'Navel' a altas temperaturas, encontraron reducciones en la A<sub>c</sub>, en el rendimiento cuántico (F<sub>V</sub>/F<sub>M</sub>) y en la concentración de clorofilas y un aumento en la mínima fluorescencia (F<sub>o</sub>), entre otras variables. Adicionalmente, la producción de especies reactivas del oxígeno y la actividad de enzimas antioxidantes se incrementaron. La disminución en la fotosíntesis podría explicarse por el número elevado de ROS en las hojas de cítricos.

En referencia a los árboles cítricos, si bien éstos pueden sobrevivir en ambientes cálidos, la asimilación neta por las hojas de los cítricos (A<sub>c</sub>) tiene un óptimo de temperaturas moderado,

entre 25 y 30° C (Syvertsen *et al.*, 2004). Presentan una tasa fotosintética relativamente baja, con respecto a otros frutales (7-10  $\mu\text{moles de CO}_2\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) y un punto de saturación también bajo, en el rango de 700 a 900  $\mu\text{moles fotones}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (Blanke, 2000), aproximadamente un tercio de la luz total (Syvertsen *et al.*, 2003).

La conductancia estomática ( $g_s$ ) en hojas de cítricos es relativamente baja, presentando una respuesta asintótica a la irradiancia (en los valores ya citados), inversa al aumento del déficit de presión de vapor y presenta un máximo en relación a la temperatura de hoja (Syvertsen y Lloyd, 1996). Con respecto a esta última, la temperatura de hoja óptima es de 30° C, para árboles bien regados. En ambientes de alta luminosidad la temperatura de hoja se puede elevar hasta 9° C por encima de la temperatura del aire y esto provoca un aumento en el déficit de presión de vapor (hoja-aire), que resulta en una disminución de la  $g_s$  y de la  $A_c$  (Syvertsen *et al.*, 2003).

Jifon y Syvertsen (2003) plantean que un estrés por alta radiación y temperatura, provoca disminución en la  $A_c$  y esta reducción está explicada hasta en un 25% por una menor  $g_s$ , mientras que disminuciones en  $A_c$  por factores no estomáticos podrían alcanzar un 40%. Algunos estudios realizados en cítricos, que incluyen el uso de mallas sombra, han mejorado las condiciones de las plantas, traduciéndose en una mayor  $A_c$ , a través de una reducción de la temperatura de hoja y el déficit de presión de vapor y un aumento de la  $g_s$ .

Syvertsen *et al.* (2003), mediante el sombreado de árboles de naranja, verificaron estos resultados, a partir de una reducción en la densidad del flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) hasta valores de 500 a 700  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , cantidad suficiente según los autores, para saturar el proceso fotosintético en los cítricos. Estos aumentos reportados en los procesos de  $g_s$  y  $A_c$ , resultan en una mayor cantidad de asimilados disponibles para los órganos en crecimiento hacia el final del período de cuajado. Raveh *et al.* (2003), al sombrear árboles de tangor ‘Murcott’, pudieron verificar como consecuencia de los aumentos mencionados, mayor concentración de almidón en hojas y mayor concentración de  $\text{CO}_2$  en los cloroplastos.

Por último, la reducción en el estrés térmico y lumínico, puede mejorar la eficiencia en el uso del agua. Al sombrear con malla negra (67%) árboles de mandarina ‘Primosol’, Germana *et al.*,

(2001) constataron un aumento del 25% en la eficiencia del uso del agua (calculado como el ratio entre la  $A_c$  y la tasa de transpiración), con respecto de los árboles sin ninguna cobertura.

### *Agua*

Situaciones de estrés hídrico pueden ocurrir por déficit del agua en el suelo, por déficit de agua en la atmósfera o por ambos. El flujo de agua dentro de la planta, desde el suelo al aire, se puede explicar por la existencia de gradientes de potencial hídrico decreciente, donde la fuerza motriz más importante es la transpiración. La velocidad de absorción y de flujo del agua están relacionadas directamente con la diferencia de potencial hídrico entre las hojas y las raíces y la conductividad hidráulica de los diferentes tejidos. El balance entre la entrada y salida de agua a través de la transpiración determina si existe un déficit de agua o no en la planta (Azcon-Bieto y Talón, 2008).

Un estrés hídrico en la fase de cuajado puede provocar la abscisión masiva de frutos (Ginestar y Castel, 1996; González-Altozano y Castel, 2003). Estos autores plantean que la fase I de crecimiento y desarrollo del fruto, es la más sensible a un déficit hídrico. González-Altozano y Castel (2003) en árboles de ‘Clementina de Nules’ (*Citrus reticulata* Blanco) con riego deficitario (25% de la evapotranspiración del cultivo) reportan un aumento de la abscisión de frutos entre 50 y 75%, respecto de árboles bien regados (125% de la evapotranspiración).

Según Bower (2000), el efecto más notable del estrés hídrico es la depresión de la capacidad fotosintética: se producen cambios en el potencial osmótico, sumado a cierre estomático a altas demandas atmosféricas, así como también cambios a nivel de procesos enzimáticos, transporte de electrones y contenido de clorofilas (Azcon-Bieto y Talón, 2008).

Pimentel (2005) en una revisión sobre las respuestas fisiológicas de las plantas a la falta de agua, plantea que esta reducción en la  $A_c$  puede estar causada por limitaciones difusivas (reducción de la difusión de  $CO_2$  por cierre estomático) como por limitaciones metabólicas (factores no estomáticos).



Un déficit hídrico promueve la biosíntesis de ABA, su acumulación y redistribución en la planta, incluyendo el transporte desde las raíces a las hojas vía xilema. Este estrés induce el aumento del pH apoplástico, favorable a la retención de la forma aniónica del ABA, que facilita la entrada de esta hormona a las células guarda de los estomas, provocando el cierre estomático. Esta regulación de la apertura estomática esta asociada a una serie de eventos a nivel celular que incluyen la activación de las proteínas G, la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), generación de óxido nítrico, incremento del pH del citosol y de la concentración del  $\text{Ca}^{2+}$ , entre otros. Esto resulta en una disminución de las concentraciones de  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y malato<sup>2-</sup> en las células guarda, que lleva al cierre estomático e inhibe su apertura (Acharya y Assmann, 2008).

En frutales, el componente atmosférico es muy importante debido a la baja conductividad hidráulica del sistema radicular; esto provoca un aumento en la transpiración que a su vez tiene efectos importantes en el potencial hídrico de la parte superior del árbol (Flore y Lakso, 1989). Bajo condiciones de déficit hídrico atmosférico -que afectan el status hídrico foliar- la respuesta estomática sería la más inmediata, con los consecuentes efectos en la asimilación de  $\text{CO}_2$ .

En respuesta a condiciones de estrés hídrico en árboles cítricos, se verificó una acumulación en raíces de ABA y ACC y un incremento en la concentración de ABA en hojas (Gómez-Cadenas *et al.*, 1996). Estos autores encontraron que luego de la rehidratación de las plantas, la concentración de ACC y etileno en hojas aumentó, resultando en una fuerte abscisión. Estos resultados sugieren que el ABA, señal primaria sensible al estrés hídrico, modula los niveles de etileno, provocando abscisión de distintos órganos (Gómez-Cadenas *et al.*, 1996). Adicionalmente, un déficit hídrico disminuye la síntesis de citoquininas en raíces y su transporte a los brotes y hojas (Taiz y Zeiger, 2006). El balance entre ABA por un lado y citoquininas y auxinas por otro, es un mecanismo de regulación importante de la  $g_s$  (Flore y Lackso, 1989). Se ha demostrado que incrementos en la concentración de citoquininas en la savia xilemática promueve la apertura estomática y disminuye la sensibilidad al ABA (Acharya y Assmann, 2008). Adicionalmente, las citoquininas tienen un rol importante en la división celular, proceso predominante del crecimiento de los frutos durante el período de cuajado y favorecen el transporte de nutrientes a las hojas desde otras partes de las plantas; se ha comprobado que los nutrientes se acumulan preferentemente en los tejidos tratados con citoquininas, a través de un

estimulo del metabolismo en áreas tratadas (con mayores concentraciones de esta hormona) aumentándole su poder fosa (Taiz y Zeiger, 2006).

Adicionalmente a los efectos ya citados de la falta de agua sobre el cierre estomático, se han encontrado también otros mecanismos de respuesta, no estomáticos, que se podrían agrupar dentro de las limitaciones metabólicas de la  $A_c$  (Pimentel, 2005). Ghannoum *et al.* (2003) demostraron en plantas  $C_4$  que en respuesta a un estrés hídrico se produce una disminución en la síntesis de ATP y como consecuencia una disminución en la regeneración de la ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP). La disminución en la síntesis de ATP podría estar causada por una menor disponibilidad de fósforo inorgánico (necesario para la síntesis de ATP) debido a una acumulación de azúcares fosforilados en el citoplasma (Tezara *et al.*, 1999, citado por Pimentel, 2005).

Otro proceso de la planta muy sensible al déficit de agua es el crecimiento por elongación de la célula. Una presión positiva (potencial de presión) debe ser mantenida en la célula para sostener su elongación. La reducción en la presión de turgencia desciende cuando el tejido pierde agua. El contenido relativo de agua de las células (RWC) es un buen indicador de las funciones metabólicas, en particular del proceso fotosintético (Ghannoum *et al.*, 2003). El volumen de las células, expresado como contenido relativo de agua, tiene un óptimo por encima o por debajo del cual la fotosíntesis decae y puede ser un importante regulador de la fotosíntesis (Flore y Lackso, 1989). Adicionalmente, Salisbury y Ross (1994) plantean que la pérdida de turgencia de las células sería un factor que dispara la señal del ABA, con las consecuencias ya mencionadas de esta hormona sobre la  $g_s$ ,  $A_c$  y abscisión de frutos.

En resumen, durante el período de cuajado, si se dan situaciones de estrés térmico-lumínico sumado a un estrés hídrico, es de esperar que varios de los procesos fisiológicos antes mencionados se vean afectados, provocando principalmente una disminución de la fotosíntesis. Como consecuencia, la cantidad de fotoasimilados del árbol disponibles para suministrarle a las fosas en crecimiento, se verá disminuido. Este hecho, sumado a cambios en el balance hormonal entre promotores e inhibidores del crecimiento, provocarían un fuerte aumento de la abscisión de frutos. Las hipótesis de trabajo y objetivos del presente estudio se sustentan en la información recabada y resumida en este capítulo.

## **2. CUAJADO DE FRUTOS EN TANGOR ‘ORTANIQUE’ EN RESPUESTA A LA POLINIZACIÓN Y A DISTINTAS SITUACIONES DE ESTRÉS\***

\* artículo presentado en Revista Agrociencia (Facultad de Agronomía, UDELAR)

<sup>1</sup>Borges, A

<sup>1</sup>Dpto. Biometría, Estadística y Cómputo. Facultad de Agronomía. Av. Garzón 780. E-mail: [aborges@fagro.edu.uy](mailto:aborges@fagro.edu.uy). Montevideo, Uruguay.

### **2.1. Introducción**

El cuajado de frutos comprende una serie de eventos a nivel celular y de desarrollo y en sentido amplio, incluye todo el período durante el cual los frutos pueden sufrir abscisión. Este período comprende la transición de ovario a fruto, que se inicia poco después de la floración, con el crecimiento del fruto por división celular y concluye definitivamente al finalizar la caída fisiológica de frutos, aproximadamente 90 días después de anthesis (Talón, 1997).

La posibilidad de cuajar de un fruto está determinada por distintos mecanismos de control, tanto endógenos como exógenos. Dentro de los primeros, las características varietales y los factores fisiológicos, en particular los nutricionales y hormonales, son los principales reguladores de este proceso. Agustí et al. (2003) plantean que los factores nutricionales refieren a la disponibilidad de carbohidratos en la planta, mientras que los factores hormonales tienen que ver con la capacidad fosa de los frutos, los cuales determinan la ‘habilidad’ para competir por esos carbohidratos. En una primera etapa, el éxito en el cuajado de frutos se ha relacionado más con aspectos hormonales, fundamentalmente los niveles endógenos de giberelinas (Talón et al., 1999). En una segunda etapa, finalizado el cuajado inicial, el cuajado de frutos está determinado por la disponibilidad de carbohidratos provenientes de las reservas o de la fotosíntesis actual (Iglesias et al., 2003; Rivas et al., 2006, 2007), constituyendo así mecanismo autorregulado que ajusta el número de frutos a la capacidad del árbol de suministrar metabolitos (Goldschmidt y Monselise, 1977; Guardiola, 1988; Rivas et al., 2007).

El cuajado de los frutos puede ser consecuencia de la polinización y fecundación o de la habilidad partenocárpica de la variedad, produciendo frutos sin semillas. En cualquier caso, el

cuajado de frutos es dependiente de una o más señales de crecimiento (reguladores del desarrollo) después de la anthesis (Gillaspy et al., 1993). Estos autores plantean que el polen produce estímulos positivos de crecimiento, en particular hormonas tales como auxinas y giberelinas. Las giberelinas producidas por el polen podrían tener un rol en el aumento de la producción de auxinas en el ovario, las que a su vez estarían actuando como señal para la reactivación de la división celular y por tanto para el cuajado inicial. En varias especies se ha constatado la presencia de giberelinas en los tubos polínicos y estos promotores de crecimiento podrían moverse hasta el óvulo, estimulando su crecimiento (Herrero, 1992).

En el caso de variedades autoincompatibles, si no son polinizadas por variedades compatibles, éstas producen frutos sin semillas. Las causas de la autoincompatibilidad pueden variar según cultivares y las más frecuentes en los cítricos pueden ser la esterilidad gamética masculina o femenina y la esterilidad homocigótica gametofítica (Iglesias et al., 2007). En algunas variedades autoincompatibles, se ha observado que la polinización con polen de la propia variedad, mejora el cuajado de frutos (Mesejo et al., 2004), sugiriendo una partenocarpia estimulada.

Con respecto a los factores exógenos que regulan este proceso, las condiciones de alta temperatura y radiación (Talón et al., 1999) y/o el stress hídrico (Bower, 2000) son los principales factores del clima promotores de la abscisión. Los cítricos tienen una tasa de asimilación neta de CO<sub>2</sub> (Ac) relativamente baja con respecto a otros frutales (7-10 μmoles de CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) y un punto de saturación también bajo, en el rango de 700 a 900 μmoles fotones m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Blanke, 2000), aproximadamente un tercio de la luz total (Syvertsen et al., 2003). En ambientes de alta luminosidad la temperatura de hoja se puede elevar hasta 9° C por encima de la temperatura del aire y esto provoca un aumento en el déficit de presión de vapor (hoja-aire), que resulta en una disminución de la g<sub>s</sub> y de Ac (Syvertsen et al., 2003). Condiciones de alta radiación, en presencia de algún otro factor de estrés (p.e. estrés hídrico), pueden dar lugar al proceso de fotoinhibición, esto es la disminución en la fotosíntesis por luz (Blanke, 2000). En este sentido, algunos estudios realizados en cítricos que incluyen el uso de mallas sombra han mejorado las condiciones de las plantas a través de una reducción de la temperatura de hoja (TH) y el déficit de presión de vapor y un aumento de la g<sub>s</sub> y la tasa de asimilación neta (Jifon y Syvertsen, 2003; Raveh et al., 2003, Syvertsen et al., 2003).

Un estrés hídrico en la etapa de cuajado puede provocar fuerte abscisión de frutos (González-Altozano y Castel, 1999). En respuesta al estrés, se acumula ácido abscísico (ABA) y de 1-

aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC) en raíces (Gómez-Cadenas et al., 1996) y en frutos (Kobashi et al., 2000), señal primaria de respuesta al estrés hídrico, que a su vez modula los niveles de etileno, activador hormonal de la abscisión (Gómez-Cadenas et al., 1996). También frente a condiciones de déficit hídrico se reporta reducción en la capacidad fotosintética, gs y transpiración y un  $\Psi_F$  más negativo (Bower, 2000; Kobashi et al., 2000)

El tangor 'Ortanique' es una variedad autoincompatible (Soler, 1999). Si bien no se conoce con exactitud cual es el mecanismo genético de esterilidad, se sugiere el de la esterilidad homocigótica gametofítica (más frecuente en frutales), por no presentar esterilidad gamética ni citológica. A nivel nacional, se la ha reportado como de comportamiento improductivo, presentando altas floraciones y bajo cuajado (Arias et al., 1996, Espino et al., 2005). Sin embargo, en condiciones de libre polinización con otras variedades compatibles, se ha reportado buen rendimiento (Carrau et al., 1993).

Ensayos de evaluación del comportamiento productivo en 'Ortanique' en distintas zonas de Uruguay, registraron altas intensidades de floración (169 a 184 flores cada 100 nudos) y bajos porcentajes de cuajado (entre 0,08 y 0,1%), pero aún en condiciones de baja floración (33 flores cada 100 nudos) el cuajado final fue de 0,5% (datos no publicados). Adicionalmente, datos de la última encuesta citrícola (MGAP, 2008) indican un rendimiento promedio bajo, de 15 T.ha<sup>-1</sup>, con un 74% de la superficie total regada. A partir de esta información se considera trascendente determinar los principales factores que limitan el cuajado, como base para el desarrollo de técnicas de manejo que permitan incrementar su rendimiento.

En base a los antecedentes presentados previamente, las principales hipótesis que sostienen este trabajo son: condiciones de estrés hídrico y/o térmico-lumínico reducen el cuajado final de 'Ortanique'; la polinización con polen de una variedad compatible mejora el cuajado de frutos y bajo estas condiciones de estrés ambiental, las diferencias en cuajado entre flores polinizadas y no polinizadas se tornarán más evidentes.

El objetivo de este trabajo fue determinar el impacto de diferentes regímenes térmico-lumínicos e hídricos y de la polinización y fecundación, en el cuajado de frutos de 'Ortanique'.

## **2.2. Materiales y Métodos**

### **Material vegetal y diseño experimental**

El ensayo se realizó en una quinta comercial ubicada en la localidad de Punta Espinillo, en el departamento de Montevideo, Uruguay (35° LS), en el ciclo productivo 2005-2006. El material vegetal utilizado fueron plantas de tangor ‘Ortanique’ (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Citrus reticulata* Bl.) de 22 años de edad, injertadas sobre pie Trifolia (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) a una densidad de 800 plantas/ha.

Con el objetivo de simular distintas condiciones ‘microambientales’ en las plantas, se evaluaron dos factores: sombra y riego. Para el primer factor se dividió el ensayo en dos experimentos: uno bajo malla sombra (M) y otro testigo sin cobertura (SM). Para el sombreado de los árboles se utilizó malla de polietileno negro (35% sombra), colocada 1 metro por encima de la copa de los árboles en una estructura horizontal (Figura 1).

Dentro de cada una de estos experimentos, en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, se asignaron los dos niveles del factor riego: seco (SR) y riego localizado utilizado en la quinta (R), generándose por tanto, cuatro condiciones distintas: con sombra y riego (MR); con sombra y sin riego (MSR), sin sombra y con riego (SMR) y sin sombra y sin riego (SMSR). La unidad experimental fueron parcelas compuestas de 7 árboles, utilizándose los 3 centrales de cada una para las evaluaciones.



Figura 1. Árboles cubiertos por la malla colocada en estructura horizontal

### **Evaluación de cuajado**

En los tres árboles centrales de cada parcela se marcaron un total de 8 ramas, conteniendo al menos 300 nudos cada una, todas con alta intensidad de floración (Cuadro 1). En plena floración (50% flor abierta) se evaluó intensidad de brotación y floración (número de brotes y flores cada 100 nudos) y distribución de la brotación según tipo de brote. En forma semanal desde 40 días post-floración hasta fin de caída fisiológica, se registró la abscisión de frutos por rama. El porcentaje de cuajado final se obtuvo de la relación entre frutos presentes al finalizar la caída fisiológica y las flores cuantificadas inicialmente.

## VARIABLES INDICADORAS DE ESTRÉS

Para la estimación del grado de estrés de las plantas se registraron las siguientes variables fisiológicas, que denominamos ‘indicadoras de estrés’:

*Potencial hídrico ( $\Psi$ ):* Con una frecuencia semanal se midió el potencial hídrico foliar ( $\Psi_F$ ), utilizando una cámara de presión marca Soilmoisture modelo 3005-1412, en seis hojas en cada condición, siguiendo los procedimientos descritos por Scholander *et al.* (1965). Las mediciones se hicieron a primera hora de la mañana (7:00 hs,  $\Psi_{Fm}$ ), al mediodía (12:00 hs,  $\Psi_{Fme}$ ) y lo que se consideró máxima demanda atmosférica (14:00 hs,  $\Psi_{Ft}$ ). Siguiendo el mismo procedimiento y a las mismas horas, también se midió el potencial hídrico xilemático ( $\Psi_X$ ), en seis hojas por condición, cubriendo las hojas media hora antes de la medición, con un film plástico y sobre éste uno de aluminio, siguiendo la metodología de Shackel (2001).

A partir de los datos de  $\Psi_F$  y  $\Psi_X$ , obtenidos en los diferentes momentos del día, se calculó el integral de estrés ( $S_\Psi$ ) propuesto por Myers (1988) el cuál expresa la intensidad y duración del estrés y es la suma de  $\Psi$  diario durante cierto período. Es estimado para ‘t’ medidas de  $\Psi$  en intervalos de ‘n’ días, usando la siguiente fórmula:

$$S_\Psi = \left| \sum_{i=0}^{i=t} (\bar{\Psi}_{i,i+1} - c)n \right|$$

donde  $\bar{\Psi}_{i,i+1}$  es la media de  $\Psi$  para cada intervalo  $i,i+1$ , y ‘c’ es el valor máximo de  $\Psi$  medido durante el ensayo para cada momento del día.

*Conductancia estomática ( $g_s$ ):* En dos fechas, simultáneamente a la medida de potencial hídrico, en los mismos árboles y horas del día, se midió la  $g_s$ , en seis hojas por árbol, mediante un porómetro DELTA-T, modelo AP-4.

*Temperatura de hoja (TH):* En dos ocasiones, también se registró la temperatura de hoja por medio de un sensor laser AYTEK - MiniTemp FS. Las medidas se realizaron en la mañana y en la tarde, en doce hojas por tratamiento, en cada ocasión.



*Temperatura y humedad relativa ambiente:* Se colocaron dos sensores automáticos de temperatura y humedad HOBO, con capacidad para registro de datos cada 30 minutos, uno por experimento (con y sin cobertura de malla), situados en la canopia de los árboles, a una altura de 1.3 metros y a una profundidad aproximada de 40 cm. Junto a los datos de TH se calculó la diferencia de temperatura hoja-aire ( $\Delta T = T^\circ \text{ hoja} - T^\circ \text{ aire}$ )

### **Evaluación de la polinización en el cuajado de frutos**

Para determinar el impacto de la polinización y fecundación en el cuajado de frutos, se utilizó un diseño de parcelas divididas en cada experimento. Las parcelas grandes correspondieron al factor riego, asignado en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Dentro de cada una de las parcelas, se marcaron 30 brotes de flor terminal (varias hojas y una flor) en estado de botón alargado (estado 59 de la escala BBCH, Agustí *et al.*, 1997) estado en el que aún no se ha producido la dehiscencia de las anteras, completando en todo el ensayo 480 brotes. A cada brote dentro de las parcelas grandes, se le asignó completamente al azar, uno de los tres tratamientos siguientes: a) ‘control’ (C); b) emasculados (E) y c) emasculados y polinizados manualmente (EP) con polen de mandarina ‘Nova’, variedad efectiva en la polinización de ‘Ortanique’ según Soler (1999). El polen de ‘Nova’ se colectó en flores recién abiertas (estado 61 de la escala BBCH, Agustí *et al.*, 1997). Los dos últimos grupos se cubrieron con bolsas de tela semitransparente y permeable, las cuales fueron retiradas finalizado el período de posible polinización (10 días post anthesis). Se realizó un seguimiento semanal de la abscisión de cada brote y se midió el diámetro ecuatorial de los mismos. Al final del período de cuajado se cuantificó el porcentaje de frutos cuajados, porcentaje de frutos con semilla y número de semillas por fruto. Dentro de los frutos cuajados pertenecientes al tratamiento C, se contabilizaron aquellos sin semillas a efectos de poder comparar su cuajado final con los frutos del tratamiento E. El porcentaje mínimo de cuajado final de frutos sin semilla en el tratamiento C se determinó de la siguiente manera:

$$\% \text{ cuajado frutos C sin semilla} = \frac{N^\circ \text{ frutos sin semilla}}{N^\circ \text{ frutos totales} - N^\circ \text{ frutos con semilla}} * 100$$

donde 'Nº frutos sin semilla' es el total de frutos que llegaron al final del período sin semillas, 'Nº frutos totales' es el número de frutos C marcados al inicio del ensayo y 'Nº frutos con semilla' corresponde al total de frutos que presentaron semillas al final del ensayo.

### **Cálculo de Evapotranspiración del Cultivo**

Para poder relacionar las necesidades de evapotranspiración del cultivo (ET<sub>c</sub>), con las entradas de agua al sistema (lluvia y riego), se calculó la evapotranspiración del cultivo a partir de la siguiente ecuación:  $ET_c = ET_o * K_c$ , donde ET<sub>o</sub> es la evapotranspiración de referencia (Allen et al, 1998), estimada con datos de una estación meteorológica de la quinta y K<sub>c</sub> es el coeficiente de cultivo para cítricos, en Uruguay (García y Castel, 2007).

### **Análisis estadístico**

Las variables discretas 'proporción de frutos cuajados en brotes individuales' y 'proporción de frutos con semilla' se analizaron utilizando un Modelo Lineal Generalizado (McCullagh y Nelder, 1989), asumiendo distribución binomial y función de enlace logit.

La variable continua 'número medio de semillas por fruto' se analizó a través de un Modelo Lineal Mixto, asumiendo distribución normal y la diferencia de medias se analizó mediante la prueba de Tukey. El modelo utilizado para esta variable, correspondió a un diseño en parcelas divididas.

Para la variable 'proporción de frutos cuajados en ramas', el modelo incluyó los factores principales sombra y riego, así como su interacción, mientras que para las restantes variables, el modelo incluyó los factores: sombra, riego, la interacción sombra × riego, polinización, interacción riego × polinización, interacción sombra × polinización y la interacción sombra × riego × polinización (Anexo 1). Las variables continuas potencial hídrico,  $g_s$  y TH, en las distintas fechas, se compararon mediante intervalos de confianza ( $1-\alpha = 0,95$ ).

Para determinar efectos de las distintas condiciones generadas sobre las variables indicadoras de estrés, se realizó un análisis de medidas repetidas en el tiempo, a partir de las mediciones realizadas en las diferentes fechas.

Se ajustó una función potencia para la dinámica de abscisión en el tiempo, de los frutos en ramas y brotes marcados. La ecuación de la curva se linealizó, transformándola a una escala log-log, a fin de comparar las pendientes para determinar cambios en la dinámica de abscisión.

Para analizar la asociación entre la proporción de frutos cuajados y cada una de las variables indicadoras de estrés, se calculó el coeficiente de correlación de rangos de Spearman, a través de todas las fechas de evaluación, según el momento del día.

## 2.3. Resultados

### 2.3.1. Cuajado de frutos

El porcentaje de cuajado final fue en todas las situaciones muy bajo, inferior al 1%, confirmando los reportes nacionales ya mencionados para ‘Ortanique’, que la ubican como variedad improductiva, presentando altas intensidades de floración y muy alta proporción de brotes generativos (Cuadro 1), resultando en un cuajado deficitario. No se presentaron diferencias en el cuajado de las parcelas con y sin riego. Tampoco resultó significativa la interacción ‘sombra × riego’. Por el contrario, el sombreado de los árboles incrementó el porcentaje de cuajado final respecto de aquellos sin sombra (Cuadro 2).

Cuadro 1. Cuadro 1. Intensidad de floración (flores/100 nudos) y porcentaje de brotes generativos (brotes sin hojas) en tanger ‘Ortanique’ para las cuatro condiciones generadas. Cada valor es el promedio  $\pm$  ES (n=32).

Condición	Flores/100 nudos	% brotes generativos
Malla + riego (MR)	104,83 $\pm$ 3.13	81,59 $\pm$ 2,75
Malla + sin riego (MSR)	106,35 $\pm$ 3.13	82,45 $\pm$ 2,75
Sin malla + riego (SMR)	113,92 $\pm$ 3.78	85,32 $\pm$ 3,18
Sin malla + sin riego (SMSR)	117,16 $\pm$ 4.06	87,87 $\pm$ 2,75

Cuadro 2. Porcentaje de cuajado final en ramas para el experimento bajo malla (M) y sin malla (SM) y para tratamiento con riego(R) y sin riego (SR). Cada valor es el promedio  $\pm$  ES (n=8)

Factor Sombra	Factor Riego	Cuajado final (%)
M		0,52 a <sup>†</sup> $\pm$ 0,17 a
SM		0,21 b $\pm$ 0,19 b
	R	0,29 a $\pm$ 0,15 a
	SR	0,38 a $\pm$ 0,19 a

<sup>†</sup>Medias seguidas por la misma letra dentro de columnas para cada factor no difieren entre sí (P $\leq$ 0,05)

En tres de las siete fechas de evaluación de cuajado, se observaron porcentajes superiores en los árboles bajo malla ( $P \leq 0,05$ ), especialmente al final del período, momento en que se determina el número de frutos que alcanzará la maduración (Figura 2). En las restantes cuatro fechas, en dos de ellas se observaron diferencias ( $P \leq 0,10$ ) a favor del experimento bajo malla.

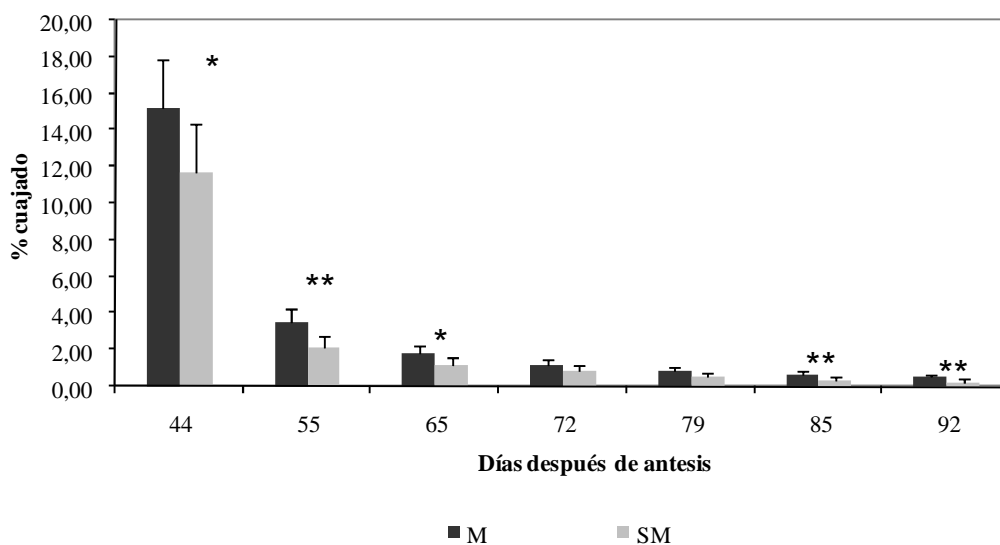


Figura 2. Porcentaje de frutos cuajados (% cuajado) en ramas marcadas, según días pos floración, para el experimento bajo malla (M) y sin malla (SM). Valores son promedios  $\pm$  E.S,  $n=32$  (Diferencias significativas [ $P \leq 0,05$ ] son indicadas por dos asteriscos (\*\*) y ( $P \leq 0,10$ ) por un asterisco (\*).

Por otra parte, en ninguna de las fechas consideradas, se observó un efecto significativo del factor riego ni de la interacción ‘sombra  $\times$  riego’, sobre el porcentaje de frutos cuajados (datos no mostrados). Previo a la instalación del ensayo, durante parte del invierno y comienzos de primavera (julio a setiembre), se registraron lluvias importantes (promedio mensual de 113 mm). Estas entradas de agua por lluvia, superaron ampliamente las necesidades de evapotranspiración del cultivo (Anexo 2), por lo que se podía esperar que estos suelos (alta capacidad de retención de agua) al momento de instalación del ensayo, tuvieran suficiente agua disponible.

### 2.3.2. Variables indicadoras de estrés

*Potencial hídrico:* Se observaron efectos significativos del sombreado y del riego, sobre el  $\Psi_F$  en horas de alta demanda ( $\Psi_{Fme}$  y  $\Psi_{Ft}$ ), mientras que la interacción ‘sombra  $\times$  riego’ no fue significativa (Cuadro 3). Por otra parte, el  $\Psi_X$  sólo fue modificado significativamente por el factor riego en todas las horas evaluadas (Cuadro 3), registrándose valores más bajos para el tratamiento de seco.

El integral de estrés ( $S_\Psi$ ) calculado para cada una de las cuatro condiciones simuladas (sombra  $\times$  riego) en las diferentes horas de medición, se presenta en la Figura 3. En las medidas de la mañana, (mayor relación con el contenido de agua en el suelo) se evidencia la falta de agua al final del período de cuajado, donde los árboles sin riego terminaron con valores de  $S_\Psi$  más altos (Figura 3.1a y 3.2a). En este período (22/12 al 4/01) no se registraron lluvias (Anexo 2). En las restantes horas de medición (mediodía y tarde) se verifica un efecto de la demanda atmosférica sobre el  $\Psi_F$  (Figura 3.2b y 3.2c), dado que los tratamientos sin cobertura mantienen siempre valores más altos que los tratamientos con malla, indicando mayor intensidad y duración del estrés en los primeros. El integral de estrés calculado a partir del  $\Psi_X$  (Figura 3.1a, 3.1b y 3.1c) estuvo más afectado por la falta de riego al final del período de evaluación.

Cuadro 3. Potencial hídrico foliar ( $\Psi_F$ ), potencial hídrico xilemático ( $\Psi_X$ ), conductancia estomática ( $g_s$ ) y temperatura de hoja (TH) medidos en hojas de árboles bajo malla (M) y sin malla (SM) y de árboles con riego (R) y sin riego (SR), según hora de medición. Cada valor es el promedio  $\pm$  ES (n=12). Diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) dentro de cada variable y factor se indican con un asterisco (\*).

Variable	Factor		Hora de medición		
	Sombra	Riego	07:00	12:00	14:00
$\Psi_F$ (MPa)	M		-0,79 $\pm$ 0,05	-1,45 $\pm$ 0,08*	-1,44 $\pm$ 0,09*
	SM		-0,85 $\pm$ 0,05	-1,84 $\pm$ 0,08	-1,82 $\pm$ 0,09
		R	-0,76 $\pm$ 0,05	-1,54 $\pm$ 0,08*	-1,45 $\pm$ 0,08*
		SR	-0,88 $\pm$ 0,05	-1,75 $\pm$ 0,08	-1,81 $\pm$ 0,08
$\Psi_X$ (MPa)	M		-0,64 $\pm$ 0,03	-1,13 $\pm$ 0,06	-1,24 $\pm$ 0,05
	SM		-0,70 $\pm$ 0,03	-1,29 $\pm$ 0,06	-1,23 $\pm$ 0,05
		R	-0,58 $\pm$ 0,03*	-1,04 $\pm$ 0,06*	-0,98 $\pm$ 0,05*
		SR	-0,75 $\pm$ 0,03	-1,38 $\pm$ 0,06	-1,50 $\pm$ 0,05
$g_s$ (mmol.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )	M		157,5 $\pm$ 19,9	116,7 $\pm$ 13,0*	98,4 $\pm$ 13,3
	SM		147,4 $\pm$ 18,6	63,0 $\pm$ 12,8	68,7 $\pm$ 12,6
		R	171,0 $\pm$ 19,0	103,2 $\pm$ 13,0	94,1 $\pm$ 14,2
		SR	132,3 $\pm$ 19,8	74,9 $\pm$ 12,8	72,7 $\pm$ 13,8
TH (° C)	M		23,7 $\pm$ 0,6	--	25,3 $\pm$ 0,7*
	SM		23,8 $\pm$ 0,6	--	29,1 $\pm$ 0,7
		R	24,0 $\pm$ 0,6	--	27,1 $\pm$ 0,7
		SR	23,5 $\pm$ 0,6	--	27,3 $\pm$ 0,7

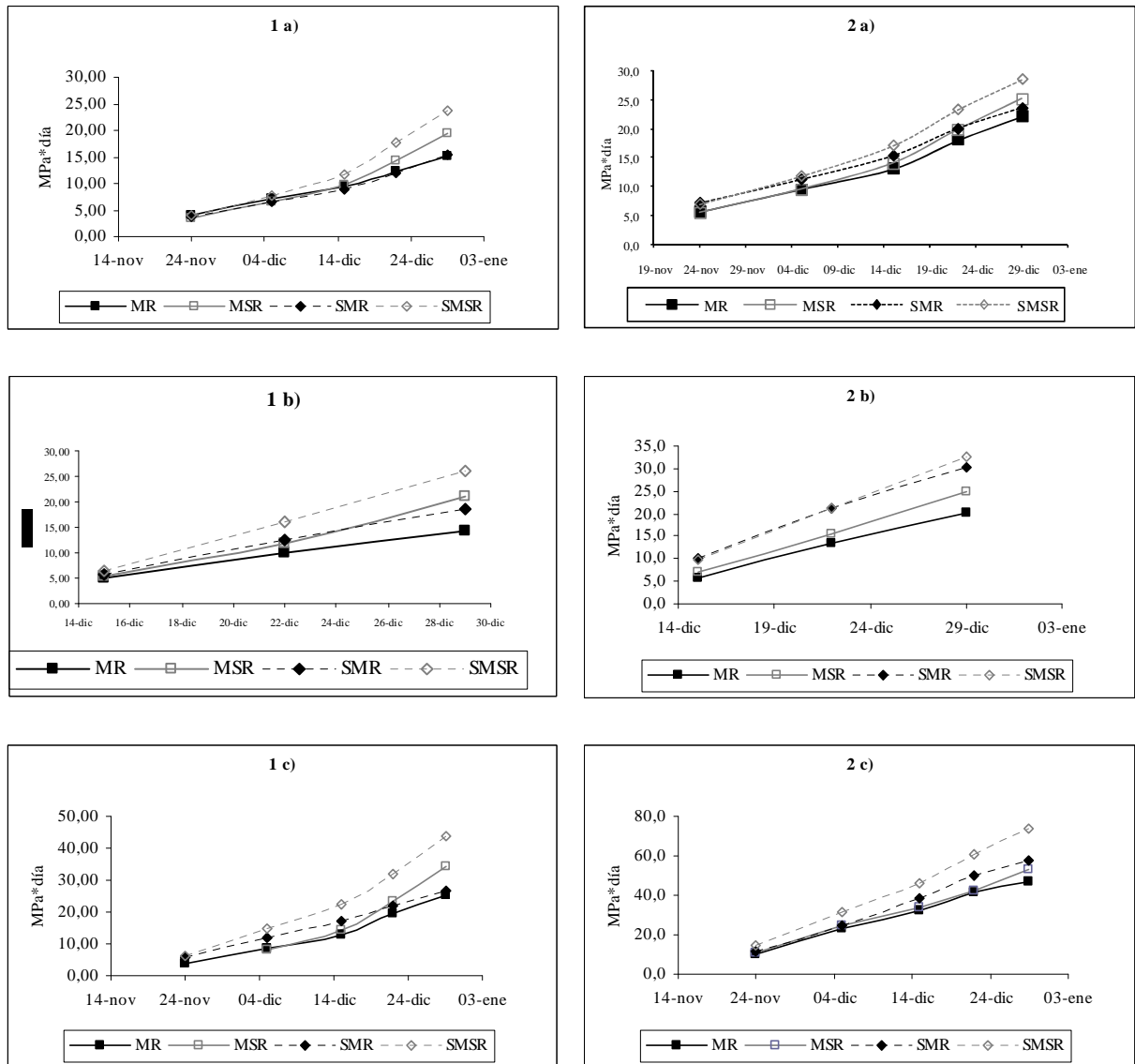


Figura 3. Integral de estrés (MPa. día) para  $\Psi_X$ , en la mañana (1a), mediodía (1b) y tarde (1c) y para  $\Psi_F$  en la mañana (2a), mediodía (2b) y tarde (2c), en cuatro condiciones: ‘MR’ malla y riego; ‘MSR’ malla sin riego; ‘SMR’ sin malla y riego y ‘SMSR’ sin malla y sin riego. Cada valor es el promedio para cada intervalo de tiempo en 12 hojas



*Conductancia estomática.* Se pudo constatar un efecto del sombreado de los árboles sobre el valor medio de  $g_s$  según la hora de medición (Cuadro 3), mientras que el factor ‘riego’ y la interacción ‘sombra × riego’ no resultaron significativos. Los árboles sombreados, presentaron mayores valores de  $g_s$ , alcanzando diferencias significativas sólo en horas del mediodía.

*Temperatura de hoja.* El sombreado de los árboles disminuyó la temperatura media de las hojas, mientras que los tratamientos de riego y la interacción, no tuvieron efecto sobre esta variable, a ninguna hora ni fechas de medición (datos no mostrados). En hojas expuestas al sol en horas de máxima demanda, se registró un valor medio 4° C menor en los árboles sombreados respecto a los no sombreados (Cuadro 3). La diferencia  $\Delta T$  fue siempre negativa para los árboles bajo malla (entre -2,90 y -2,55 ° C) mientras que para los árboles que no tenían cobertura se mantuvo en valores positivos (entre 0,07 y 2,17 ° C).

#### *Relación entre variables indicadores de estrés y cuajado*

Se encontró una asociación significativa entre la proporción de frutos cuajados y las variables indicadoras de estrés, en momento de máxima demanda atmosférica, medida a través del coeficiente de correlación de Spearman (Cuadro 4). Cabe resaltar que valores que indican mayores niveles de estrés en la planta (mayor TH, menor potencial hídrico y menor  $g_s$ ) se asociaron con menores porcentajes de cuajado.

Cuadro 4. Coeficiente de correlación de rangos de Spearman, entre la proporción de frutos cuajados y potencial hídrico foliar y xilemático ( $\Psi_F$  y  $\Psi_X$ ), conductancia estomática ( $g_s$ ) y temperatura de hoja (TH), medidos a las 14:00hs.

		Variables indicadoras de estrés			
		TH (° C)	$\Psi_F$ (MPa)	$\Psi_X$ (MPa)	$g_s$ (mmol.m <sup>-2</sup> .s <sup>-1</sup> )
Proporción de cuajado	Coefficiente de correlación	-0,976	0,439	0,706	0,786
	Prob >  r	<0,0001	0,0362	0,0002	0,0208

### 2.3.3. Efecto de la polinización sobre el cuajado

Según el modelo utilizado para explicar el cuajado en brotes individuales (Anexo 1), los únicos efectos que resultaron significativos fueron el tratamiento al brote (polinización) y la interacción ‘sombra × polinización’.

*Polinización.* Al comparar el valor medio de cuajado final de los distintos tratamientos al brote, se constató un impacto significativo de la polinización artificial sobre el cuajado de brotes terminales (Cuadro 5). La polinización con polen de una variedad compatible, aumentó en gran medida el valor de cuajado final y fue muy efectiva en lograr la fecundación, constatándose la presencia de semillas en todos los frutos que permanecieron hasta el final del período. Los frutos en brotes control (C) cuajaron más que aquellos en brotes emasculados (E), y se pudo constatar al final del período, que cerca de la mitad de los frutos C presentaban semillas (56% de los frutos en M y 47% en SM). Se comparó el porcentaje mínimo de cuajado final de aquellos frutos control que no presentaban semillas con los brotes E y se verificó un cuajado significativamente mayor en los primeros (14% y 2%, respectivamente;  $P \leq 0,01$ ).

Cuadro 5. Porcentaje de cuajado final de brotes terminales control (C), brotes terminales emasculados (E) y brotes terminales emasculados y polinizados (EP). Valores promedios  $\pm$  ES (n=160)

Brote	Cuajado final (%)
C	19,10 $\pm$ 6,95 b <sup>†</sup>
E	2,39 $\pm$ 2,68 c
EP	48,62 $\pm$ 9,90 a

<sup>†</sup>Medias seguidas por la misma letra dentro de columnas no difieren entre sí ( $P \leq 0,05$ )

‘Sombra × polinización’. El cuajado final de los brotes emasculados y polinizados (EP) fue significativamente mayor en los árboles sombreados que en árboles sin cobertura ( $P < 0,0001$ ). También se observó un patrón de abscisión distinto entre experimentos o localidades para estos brotes, confirmado por las pendientes de las curvas linealizadas, que resultaron significativamente diferentes (Figura 4). A su vez, estos brotes (EP) tuvieron mayor porcentaje de

cuajado respecto a los otros dos tratamientos (C y E) sólo en el experimento bajo malla, mientras que en los árboles sin malla, los EP tuvieron igual porcentaje de cuajado final que los brotes C (Figura 5).

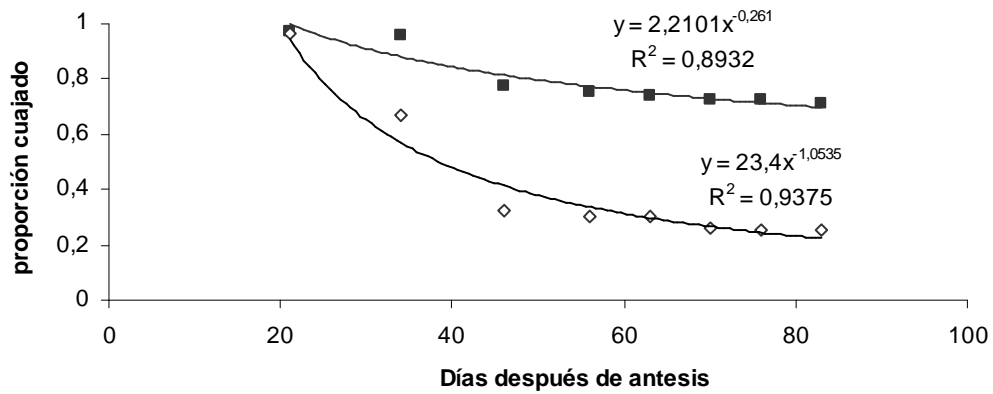


Figura 4. Proporción de cuajado de brotes emasculados y polinizados (EP) según días pos antesis, para el experimento bajo 'M' malla (■) y 'SM' sin malla (◇) y ecuación de la curva ajustada. Cada punto representa la proporción media observada en cada experimento sobre un total de 80 frutos

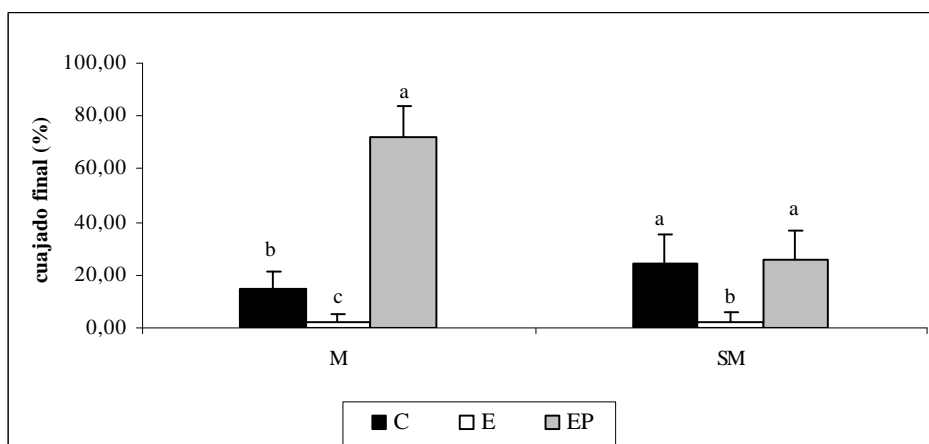


Figura 5. Porcentaje de cuajado final de frutos (%) para el tratamiento control (C), emasculado (E) y emasculado y polinizado (EP), correspondientes al experimento bajo malla (M) y sin malla (SM). Cada valor es el promedio + ES (n=80). Letras diferentes dentro de cada experimento indican diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ )

En el Cuadro 6, se muestra el número medio de semillas por fruto según experimento y tratamiento al brote (C y EP). Los frutos provenientes de brotes C presentaron igual número promedio de semillas por fruto en ambas situaciones, mientras que los frutos en brotes EP duplicaron este valor en los árboles bajo malla respecto a aquellos en árboles sin cobertura.

Cuadro 6. Número promedio de semillas por fruto correspondientes al tratamiento control (C) y emasculado y polinizado (EP) para el experimento bajo malla (M) y sin malla (SM). Cada valor es el promedio  $\pm$  ES.

Experimento	Tratamientos de polinización	
	C	EP
M	1,2 $\pm$ 0,45	13,6 $\pm$ 0,91
SM	1,3 $\pm$ 0,45	6,2 $\pm$ 0,91
	Ns	**

ns= no significativo; \*\* significativo ( $P \leq 0,05$ ).

## 2.4. Discusión

El bajo porcentaje de cuajado cuantificado en nuestro trabajo confirma reportes previos para ‘Ortanique’ en nuestro país. El efecto positivo del sombreado de los árboles sobre el cuajado verificado en este trabajo puede relacionarse a varios factores vinculados a situaciones de estrés. Jifon y Syvertsen (2003) encontraron que un estrés por alta radiación y temperatura en árboles cítricos, provoca una disminución en la  $A_c$ , explicada hasta en 25% por una menor  $g_s$ , mientras que las limitaciones en la  $A_c$  debido a factores no estomáticos superó el 40%. Otros autores, también asocian reducciones en la  $A_c$  inducida por altas temperaturas a factores no estomáticos, como podría ser el proceso de fotoinhibición (Blanke, 2000).

El sombreado aumentó en forma significativa la  $g_s$  en hojas en horas del mediodía, confirmando los reportes de Cohen *et al.* (1997) y Syvertsen *et al.* (2003). Los primeros proponen que los cítricos ajustan la conductancia en hojas para mantener la transpiración constante en diferentes ambientes. Adicionalmente, estos autores encontraron que incrementos en  $g_s$  fueron acompañados por incrementos en la  $A_c$ , asociación que ha sido confirmada también por Raveh *et al.* (2003). Otros factores no estomáticos que puedan afectar en forma negativa la  $A_c$  no fueron evaluados en este trabajo. El  $\Psi_F$  también fue afectado por el sombreado de los árboles en horas de mayor demanda, donde los árboles bajo malla alcanzaron valores más altos de  $\Psi_F$  (Cuadro 3), coincidiendo con los resultados de Cohen *et al.* (1997). Durante el período de evaluación se pudo constatar un mayor estrés acumulado (tanto en intensidad como en duración) medido a través del  $S_{\Psi_F}$  (Figuras 3.2b y 3.2c), en árboles sin cobertura en horas del mediodía y máxima demanda. El  $\Psi_F$  es un indicador muy afectado por factores microambientales, especialmente por la exposición a la luz solar directa y mayor temperatura que presentan las hojas externas (Shackel *et al.*, 1997). Este mayor estrés por radiación y temperatura podría relacionarse con el menor porcentaje de cuajado verificado en éstas condiciones (SM). En síntesis, las variables fisiológicas afectadas por el sombreado fueron la TH, la  $g_s$  y el  $\Psi_F$ . Estas evidencias sugieren que durante el ensayo se dieron condiciones de estrés localizadas a nivel foliar, más que a nivel de planta entera.

Se pudo verificar una correlación significativa entre las variables fisiológicas  $\Psi_F$ ,  $\Psi_X$ ,  $g_s$  y TH, registradas a máxima demanda atmosférica y la proporción de frutos cuajados.

Esta asociación, podría explicarse por los efectos directos de estas variables sobre el proceso de fotosíntesis, como también sobre otros procesos regulados hormonalmente. Una menor  $A_c$  implica menos fotoasimilados disponibles para los frutos y otras fomas en crecimiento hacia el final del período de cuajado (Kobashi *et al.*, 2000, Jifon y Syvertsen, 2003; Raveh *et al.*, 2003). En esta línea, Raveh *et al.* (2003) encontraron mayor concentración de almidón, sacarosa, glucosa y carbohidratos totales, en hojas de tangor 'Murcott' en árboles bajo malla.

Frente a situaciones de estrés fundamentalmente hídrico, la planta sintetiza ABA y ACC en raíces (Gómez-Cadenas *et al.*, 1996) y en frutos (Kobashi *et al.*, 2000), y éste modula los niveles de etileno, provocando la abscisión de distintos órganos. Bower (2000) plantea que en condiciones de estrés hídrico, sumado al aumento en la síntesis de ABA, se disminuye la síntesis de citoquininas en raíces y su transporte a los brotes y hojas. El balance entre ABA por un lado y citoquininas y auxinas por otro, es un mecanismo de regulación importante de la  $g_s$  (Flore y Lackso, 1989). Se ha demostrado que incrementos en la concentración de citoquininas en la savia xilemática promueve la apertura estomática y disminuye la sensibilidad al ABA (Acharya y Assmann, 2008). Adicionalmente, las citoquininas tienen un rol importante en la división celular, proceso predominante del crecimiento de los frutos durante el período de cuajado y favorecen el transporte de nutrientes a las hojas desde otras partes de las plantas.

El factor riego evaluado en este trabajo, no tuvo efecto significativo sobre el porcentaje de cuajado final de frutos. Previo a la instalación del ensayo, durante parte del invierno y comienzos de primavera (julio a setiembre), se registraron lluvias importantes (promedio mensual de 113 mm). Estas entradas de agua por lluvia, superaron ampliamente las necesidades de evapotranspiración del cultivo (Anexo 2), por lo que se podía esperar que los suelos de la quinta de alta capacidad de retención de agua, tuvieran suficiente agua disponible al momento de instalación del ensayo. Según García (1995), si los árboles llegan a la primavera con suficiente agua disponible en el suelo y dado que el uso de agua por el cultivo no es alto entre setiembre y noviembre, no se espera que ocurran déficits hídricos importantes, aún sin riego. Este autor, en un ensayo de riego en naranjas y limones en el sur del Uruguay, no observó diferencias en rendimiento entre los tratamientos de secano y de riego desde floración hasta fin de caída

fisiológica. La ausencia de diferencias entre ambos tratamientos (R y SR), también se constató en la  $g_s$  y TH. El riego sólo tuvo efecto sobre el  $\Psi_F$  y  $\Psi_X$ . Los árboles sin riego tuvieron valores menores en ambos casos, confirmando resultados reportados previamente (Kobashi *et al.*, 2000).

La polinización manual y fecundación constatada en este ensayo incrementó significativamente el cuajado final de los frutos, coincidiendo con resultados encontrados para otras variedades autoincompatibles (Chao, 2005) y a nivel nacional para esta variedad (Carrau *et al.*, 1993). La emasculación de flores provocó una abscisión masiva de frutos, llegando casi al 100%. En los brotes C, aproximadamente la mitad de los frutos que llegaron al final del período de cuajado presentaron semillas, lo que sugiere que fueron polinizados y fecundados por polen de variedades compatibles cercanas en la quinta, y esto mejoró su habilidad para competir con otras fosas. El resto de los frutos C que llegaron al final del período de cuajado sin semillas presentaron mayores porcentajes de cuajado que los brotes E. Aunque no se puede afirmar que los frutos control sin semillas fueron polinizados naturalmente, estos mayores porcentajes de cuajado sugieren la posibilidad de una partenocarpia estimulada por la polinización, que -aunque no se concrete la fecundación- induciría la síntesis hormonal necesaria para el cuajado de estos frutitos. Mesejo *et al.* (2004) en un estudio sobre dos cultivares de mandarinas autoincompatibles ‘Marisol’ y ‘Fortune’, encontraron un efecto positivo de la polinización manual con su propio polen, tanto en el cuajado de frutos como en el crecimiento de los mismos. La autopolinización, sin concretarse la fecundación, disminuyó la abscisión de un 24% en flores emasculadas a un 5% en flores autopolinizadas.

Se verificó un comportamiento diferente de los tratamientos de polinización en los dos experimentos o localidades (M y SM). En los árboles sin cobertura (SM) los frutos provenientes de brotes polinizados artificialmente (EP) cuajaron menos que los frutos EP que estaban en árboles bajo malla. Adicionalmente, estos frutos en la condición SM no se diferenciaron en su cuajado final de los frutos C. Estos resultados no confirmaron una de las hipótesis planteadas originalmente, que sostenía que los frutos con semillas tienen mayores posibilidades de cuajar especialmente en condiciones de mayor estrés. Los brotes EP en el experimento SM presentaron significativamente menos semillas por fruto con respecto a los frutos bajo malla. La causa del menor número de semillas de los brotes EP en el experimento SM con respecto a M, no es

posible determinarla a partir de este ensayo. Una posible explicación e hipótesis de trabajo para futuros ensayos podría ser que bajo malla, condiciones de menor temperatura y radiación directa extenderían la funcionalidad de la flor, permitiendo la fecundación de un mayor número de óvulos. La funcionalidad de la flor se podría expresar como el período de polinización efectiva (PPE) definido como el tiempo durante el cual se puede producir un fruto a través de la polinización y fecundación (Williams, 1965). Se calcula como la diferencia en días de longevidad del óvulo de una flor y el tiempo que tarda el tubo polínico en alcanzarlo para fecundarlo desde que germina en el estigma. En cítricos, no existe mucha información sobre el efecto de las condiciones ambientales en el período de polinización efectiva; en otras especies frutales existen varios trabajos que reportan un efecto directo de la temperatura sobre la duración de la receptividad del estigma y sobre la germinación y crecimiento del tubo polínico. En cerezo, se ha constatado que altas temperaturas acortan el período de receptividad del estigma y bajas temperaturas lo aumentan. Sumado a esto altas temperaturas reducen la capacidad de germinación del polen (Hedhly, *et al.*, 2003). Tromp y Borsboom (1994) sostienen que temperaturas moderadas durante la floración en manzano y peral, disminuyen la tasa de crecimiento del tubo polínico pero extienden el período de polinización efectiva, a través de una extensión de la vida del óvulo.

En resumen, nuestros resultados confirman el bajo porcentaje de cuajado de ‘Ortanique’, especialmente en condiciones de alta floración. La disminución del estrés térmico y lumínico con el uso de mallas sombra, confirmado a través de algunas variables indicadoras de estrés, mejoró el cuajado final. Sin embargo, el potencial hídrico xilemático (mejor indicador del estado hídrico de la planta) no se vio afectado por el sombreado. Estos resultados sugieren que durante el ensayo se dieron condiciones de estrés localizadas a nivel foliar y que éstas pueden afectar el desarrollo del fruto en etapas tempranas. En las condiciones del experimento, no se verificó que la supresión del riego produjera situaciones de estrés que pudieran afectar el cuajado final de frutos. Mediante el manejo de la polinización se confirmó que la fecundación de las flores de ‘Ortanique’ mediante polen de una variedad compatible, incrementó en forma significativa el cuajado final, especialmente bajo malla sombra.



## 2.5. Bibliografía

- Acharya, B.R. and Assmann, S.M. 2008. Hormone interaction in stomatal function. *Plant Mol. Biol.* Online version:<http://www.springerlink.com/content/u4t3451285511715/fulltext.pdf>
- Agustí, M., Martínez-Fuentes, A., Mesejo, C., Juan, M. y Almela V. 2003. Cuajado y desarrollo de los frutos cítricos. Serie Divulgación Técnica N° 55. Ed. Generalitat Valenciana. Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación. 80p.
- Agustí, M., Zaragoza, S., Bleiholder, L., Buhr, H., Hack, H., Klose, R., Stauß, R. 1997. Adaptation de l'échelle BBCH à la description des stades phénologiques des agrumes de genre *Citrus*. *Fruits* 52:287-295
- Allen R.G., Pereira L.S., Raes D., and Smith M., 1998. Crop evapotranspiration (guidelines for computing crop water requirements). FAO Irr Drain Paper N° 56, FAO, Rome.
- Arias, M., Ronca, F., Arbiza, H. y Gravina, A. 1996. Estudio del comportamiento fenológico-reproductivo del tangor Ortanique (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Citrus reticulata* Bl.) en el Sur del Uruguay. Actas de la XXI Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Mendoza, Argentina: 208-209.
- Blanke, M.M. 2000. Photoinhibition in citrus. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 1:619-622.
- Bower, J.P. 2000. Water stress in citrus and its alleviation. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 1: 630-633
- Carrau, F; Franco, J. y Diez, J.C. 1993. Evaluación del híbrido cítrico Sunburst. I.N.I.A., Serie Técnica No. 31:16p.

- Chao, C. T. 2005. Pollination study of mandarins and the effect on seediness and fruit size: implications for seedless mandarin production. *HortSci.*, 40(2):362-365.
- Cohen, S., Moreshet, S., Le Guillou, L, Simon, J.C. and Cohen, M. 1997. Response of citrus trees to modified radiation regime in semi-arid conditions. *J. Exp. Bot.*, 48(306): 35-44
- Espino, M.; Borges, A.; Da Cunha Barros, M.; Gambetta, G. y Gravina, A. 2005. Manejo de la floración y cuajado de frutos en tangor 'Ortanique'. *Memorias II Simposio Investigación y desarrollo tecnológico en Cítrus*. Montevideo, Uruguay. CD, 4p
- Flore, J.A. and Lakso, A.N. 1989. Environmental and physiological regulation of photosynthesis in fruit crops. *Hort. Reviews*, 11:111-157
- García Petillo, M. 1995. Effects of irrigation periods on citrus yield and fruit quality in Uruguay. *Proc. Fifth Int. Microirrigation Cong.*, April 2-6, 1995. Orlando, Florida, USA. pp 492-496.
- García Petillo, M. and Castel, J.R. 2007. Water balance and crop coefficient (Kc) estimation of a citrus orchard in Uruguay. *Spanish J. of Agric. Res.*, Vol. 5(2), 232-243.
- Gillaspy, G.; Bendavid, H. and Gruissem, W. 1993. Fruits: a developmental perspective. *Plant Cell*, 5:1439-1451
- Goldschmidt, E.E. and Monselise, S.P. 1977. Physiological assumptions toward the development of a citrus fruiting model. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 2:668-672
- Gómez-Cadenas, A., Tadeo, F.R., Talón, M. and Primo-Millo, E. 1996. Leaf abscission induced by ethylene in water-stressed intact seedlings of Cleopatra mandarin requires previous abscisic acid accumulation in roots. *Plant Physiol.*, 112:401-408.

- González-Altozano, P. and Castel, J.R. 1999. Regulated deficit irrigation in Clementina de Nules citrus trees. I. Yield and fruit quality effects. *J. Hort Sci. & Biotech.*, 74(6):706-713.
- Guardiola, J.L. 1988. Factors limiting productivity in citrus: a physiological approach. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 1:381-394
- Hedhly, A., Hormaza, J.I. and Herrero, M. 2003. The effect of temperature on stigmatic receptivity in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Plant Cell Environ.*, 26:1673-1680
- Herrero, M. 1992. From pollination to fertilization in fruit trees. *Plant Growth Regulation* 11:27-32
- Iglesias, D.J.; Cercós, M.; Colmenero-Flores, J.M.; Naranjo, M.A.; Ríos, G.; Carrera, E.; Ruiz-Rivero, O.; Lliso, I.; Morillon, R.; Tadeo, F.R. and Talón, M. 2007. Physiology of citrus fruiting. *Braz. J. Plant Physiol.*, 19(4):333-362
- Iglesias D.J., Tadeo F.R., Primo-Millo E. and Talón M. 2003. Fruit set dependence on carbohydrate availability in citrus trees. *Tree Physiol.* 23:199-204
- Jifon, J.L. and Syvertsen, J.P. 2003. Moderate shade can increase net gas exchange and reduce photoinhibition in citrus leaves. *Tree Physiol.*, 23:119–127
- Kobashi, K., Gemma, H. and Iwahori, S. 2000. Abscisic acid content and sugar metabolism of peaches grown under water stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 125(4): 425-428.
- McCullagh, P. and Nelder, J.A. 1989. *Generalized Linear Models*. London: Chapman and Hall.
- Mesejo, C., Martínez-Fuentes, A., Reig, C., Juan, M., Almela, V. and Agustí, M. 2004. Effect of Cross-Pollination between Marisol and Fortune mandarin on fruit set and sugar content. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 2:459-461.

- M.G.A.P. 2008. Encuesta Citrícola “Primavera 2007”. DIEA, Serie Encuestas N° 259, 24 p.
- Myers, B.J. 1988. Water stress integral – a link between short-term stress and long-term growth. *Tree Physiol.*, 4:315-323
- Raveh, E., Cohen, S., Raz, T., Yakir, D., Grava, A. and Goldschmidt, E.E. 2003. Increased growth of young citrus trees under reduced radiation load in a semi-arid climate. *J. Exp. Bot.*, 54(381):365-373
- Rivas, F., Erner, Y., Alós, E., Juan.M., Almela, V. and Agustí, M. 2006. Girdling increases carbohydrate availability and fruit-set in citrus cultivars irrespective of parthenocarpy ability. *J. Hort. Sci. & Biotech.* 81 (2):289-295.
- Rivas, F., Gravina, A. and Agustí, M. 2007. Girdling effects on fruit set and quantum yield efficiency of PSII in two *Citrus* cultivars. *Tree Physiol.*, 27:527-535.
- Scholander, P.F., Hammel, H.T., Bradstreet, E.D., and Hemmingsen, E.A. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Sci.*, Vol. 148, 339-346.
- Shackel, K. 2001. The use of midday stem water potential for irrigation scheduling and water stress diagnosis in prune and almond. International Symposium Irrigation and Water Relations in Grapevines and Fruit Trees. Mendoza, Argentina, December 4-6.
- Shackel, K.A., Ahmadi, H., Biasi, W., Buchner, R., Goldhamer, D. and Gurusinghe, S. 1997. Plant water status as an index of irrigation need in deciduous fruit trees. *HortTech.*, 7:23-29.
- Soler, J. 1999. Reconocimiento de variedades de cítricos en campo. Generalitat Valenciana. Serie de divulgación técnica. N° 43: 187p.

- Syvertsen, J.P., Goñi, C. and Otero, A. 2003. Fruit load and canopy shading affect leaf characteristics and net gas exchange of 'Spring' navel orange trees. *Tree Physiol.*, 23:899-906.
- Talón, M., Mehouchi, J., Moltalván, J., Tudela, E. y Villalba, D. 1999. Factores que afectan a la abscisión y cuajado de los frutos de los cítricos. *Levante Agrícola*, 346:5-13.
- Talón, M. 1997. Regulación del cuajado del fruto en cítricos: evidencias y conceptos. *Levante Agrícola* 338, 27-37.
- Tromp, J. and Borsboom, O. 1994. The effect of autumn and spring temperatura on fruit set and on the effective pollination period in apple and pear. *Scientia Hort.* 60:23-30.
- Williams, R.R. 1965. The effect of summer nitrogen applications on the quality of apple blossom, *J. Hort. Sci.*, 40:31-41.

### 3. DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

#### 3.1. Discusión General

En los cítricos, durante el período de cuajado de frutos se define en términos cuantitativos y cualitativos la siguiente cosecha, lo que convierte a esta fase crítica en una de las principales limitantes productivas. Esta etapa puede ser más o menos limitante del rendimiento en función de la variedad. Los cultivares de cítricos pueden clasificarse según su hábito productivo en alternantes (alta y baja carga en años consecutivos) y no alternantes. Dentro de estos últimos, se puede distinguir entre variedades productivas e improductivas, dependiendo de su habilidad partenocárpica. Las últimas, a las que puede asociarse 'Ortanique', se caracterizan por presentar durante varios ciclos altas floraciones y bajo cuajado de frutos.

De las causas que se han asociado al comportamiento improductivo, las principales citadas refieren a los niveles endógenos de giberelinas, sumado a una baja capacidad de catabolizar el ácido abscísico y a su vez a una alta conjugación de auxinas. En variedades donde se han determinado bajos niveles endógenos de giberelinas al momento de anthesis, se ha constatado una capacidad intrínseca para responder con un incremento del cuajado a aplicaciones exógenas de GA<sub>3</sub>, mientras que las variedades que muestran niveles normales de giberelinas su capacidad de respuesta es mucho menor (Talón *et al.*, 2001).

En 'Ortanique' no existen trabajos donde se hayan determinado niveles y tipos de giberelinas presentes en ovarios y frutos durante el período de cuajado. Talón *et al.* (2001) en una revisión sobre el efecto del ácido giberélico para la mejora del cuajado en variedades de cítricos, reportan para el caso de 'Ortanique' que las pulverizaciones con GA<sub>3</sub> en floración no presentan ningún efecto positivo sobre el cuajado. A nivel nacional, aplicaciones de GA<sub>3</sub> a dosis altas (50 mg.L<sup>-1</sup>) en floración, no resultaron en una mejora del cuajado para esta variedad (Gravina, 2007).

Esta ausencia de respuesta al GA<sub>3</sub> en el cuajado final, sugiere que son otros factores endógenos y exógenos en interacción, que provocan que 'Ortanique' en las condiciones de Uruguay, presente

bajos porcentaje de cuajado de frutos. En particular en condiciones de alta floración (como las que se registraron durante este trabajo) donde predominan los brotes sin hojas, una disminución de la cantidad de carbohidratos disponibles puede ser un factor decisivo en la abscisión de frutos. En una primera etapa del período de cuajado la demanda por carbohidratos es cubierta fundamentalmente por las reservas de la planta y en una segunda etapa por la fotosíntesis actual. En este sentido, todos los factores que afecten el proceso de fotosíntesis, van a estar impactando sobre la capacidad de generar nuevos fotoasimilados.

En este trabajo se pudo constatar que una reducción del estrés térmico-lumínico mediante el sombreado de los árboles, tuvo un efecto positivo sobre el cuajado final de frutos. Las variables indicadoras de estrés afectadas por el sombreado fueron la temperatura de hoja, la conductancia estomática y el potencial hídrico foliar, mientras que el potencial hídrico xilemático (mejor indicador del estado hídrico de la planta) no se vio afectado. Estos resultados sugieren que durante el ensayo se dieron condiciones de estrés localizadas a nivel foliar, más que a nivel de planta entera. En el caso de los árboles sin cobertura, donde se registraron los valores más altos de TH, menor  $g_s$  y menor potencial hídrico foliar, se puede inferir que la  $A_c$  en estos árboles se haya visto disminuida, tanto por factores estomáticos como no estomáticos. Se ha reportado que los cítricos mantienen la transpiración relativamente constante, aún en ambientes diferentes, durante el transcurso del día y en las diferentes estaciones, a través de una regulación en la conductancia foliar. En consecuencia, cuando se reduce la demanda atmosférica, mediante la cobertura con malla sombra, para mantener la transpiración constante, aumentan la conductancia en hojas, estimulando así el proceso de fotosíntesis. Sumado a esto, condiciones de alta radiación, pueden provocar reducciones en la  $A_c$  de carácter no estomático, a través del proceso de fotoinhibición.

Por otra parte, la supresión del riego durante el período de cuajado no tuvo efecto sobre el cuajado final. Se han reportado limitaciones en la fotosíntesis causadas por un estrés hídrico, donde la respuesta estomática sería la más inmediata, con los consecuentes efectos en la  $A_c$ . Sin embargo, la  $g_s$  no estuvo afectada por la supresión del riego, así como tampoco la TH, pudiendo ser una explicación para la ausencia de respuesta del cuajado final a los tratamientos de riego.

En relación a la respuesta a la polinización de esta variedad, se pudo constatar que es fecundada por otras variedades como la mandarina ‘Nova’ y esto mejora su comportamiento productivo, a través de un mayor cuajado, pero disminuye la calidad de fruta por la presencia de semillas. La emasculación de flores, provocó una abscisión masiva de frutos, llegando casi al 100%. Sin embargo, algunos frutos que procedían de brotes control (sin emasculación ni polinización artificial) llegaron al final del período de evaluación sin semillas, alcanzando diferencias significativas en su cuajado respecto de los procedentes de brotes emasculados. Esto sugiere la posibilidad de que esta variedad presente partenocarpia de tipo estimulativa, donde la polinización (aún sin fecundación) induce el cuajado.

En los árboles sin cobertura (SM) los frutos provenientes de brotes polinizados artificialmente (EP) cuajaron menos que los frutos EP que estaban en árboles bajo malla. Adicionalmente, estos frutos en la condición SM no se diferenciaron en su cuajado final de los frutos ‘control’. Estos resultados fueron opuestos a una de las hipótesis planteadas originalmente, que sostenía que los frutos con semillas tienen mayores posibilidades de cuajar especialmente en condiciones de mayor estrés. No fue posible determinar en este trabajo las causas para explicar este comportamiento diferencial, pero se sugiere que las condiciones bajo malla pudieron haber extendido el período de polinización efectiva y estimulado el trabajo de las abejas, principales insectos polinizadores, dado –entre otros factores- que bajo malla los frutos presentaron un número de semillas significativamente mayor. Una hipótesis que surge a partir de estos resultados es que en árboles sin cobertura, en situaciones de alta radiación y temperatura ambiente se pueden establecer condiciones de estrés localizadas a nivel floral, afectando la longevidad del óvulo, la receptividad del estigma y el crecimiento del tubo polínico.

### **3.2. Conclusiones**

- Se comprobó una baja capacidad natural de cuajado de frutos de ‘Ortanique’ en las condiciones de Uruguay.



- Se confirma la mejora del cuajado en respuesta a una reducción de las condiciones de estrés provocadas por alta radiación y/o temperatura ambiental
- Los resultados muestran evidencias de condiciones de estrés localizadas a nivel foliar. Esto se pudo constatar por una mayor  $g_s$ , menor TH y mayor potencial hídrico foliar en árboles sombreados, en momentos de máxima demanda atmosférica
- La polinización con polen de una variedad compatible, incrementó el porcentaje de cuajado final, respecto de frutos provenientes de brotes control y emasculados, en las condiciones bajo malla.
- Nuestros resultados sugieren que ‘Ortanique’ presenta partenocarpia estimulada por la polinización.
- La reducción de la radiación incidente no incrementó las diferencias en el porcentaje de cuajado entre flores emasculadas y emasculadas y polinizadas.
- La supresión del riego en este periodo no generó condiciones limitantes para el cuajado

### 3.3. Bibliografía

- Acharya, B.R. and Assmann, S.M. 2008. Hormone interaction in stomatal function. Plant Mol. Biol. Online version:<http://www.springerlink.com/content/u4t3451285511715/fulltext.pdf>
- Agustí, M., Martínez-Fuentes, A., Mesero, C., Juan, M. y Almela V. 2003. Cuajado y desarrollo de los frutos cítricos. Serie Divulgación Técnica N° 55. Ed. Generalitat Valenciana. Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación. 80pp.
- Arias, M., Ronca, F., Arbiza, H. y Gravina, A. 1996. Estudio del comportamiento fenológico-reproductivo del tangor Ortanique (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Citrus reticulata* Bl.) en el Sur del Uruguay. Actas de la XXI Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Mendoza, Argentina: 208-209.
- Ben-Cheikh, W., Perez-Botella, J., Tadeo, F.R., Talon, M. and Primo-Millo, E. 1997. Pollination increases gibberellin levels in developing ovarios of seeded varieties of citrus. Plant. Physiol.114:557-564
- Björkman, O. and Powles, S.B. 1984. Inhibition of photosynthetic reactions under water stress: interaction with light level. Planta, 161:490-504
- Blanke, M.M. 2000. Photoinhibition in citrus. Proc. Intl. Soc. Citriculture, 1:619-622.
- Bower, J.P. 2000. Water stress in citrus and its alleviation. Proc. Intl. Soc. Citriculture, 1: 630-633
- Brewbaker, J. 1957. Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants J. Hered., 48: 271 - 277.

- Bustan, A. and Goldschmidt, E.E. 1998. Estimating the cost of flowering in a grapefruit tree. *Plant Cell and Environment*, 21: 217-224
- Carrau, F; Franco, J. y Diez, J.C. 1993. Evaluación del híbrido cítrico Sunburst. I.N.I.A., Serie Técnica No. 31:16p.
- Chao, C.T., Fang, J. And Devanand, P.S. 2005. Long distance pollen flow in mandarin orchards determined by AFLP markers – implications for seedless mandarin production. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 130(3):374-380
- da Cunha Barros, M. y Gravina, A. 2006. Influencia del tipo de brote en el cuajado y crecimiento del fruto del tangor ‘Ortanique’. *Agrociencia*, X(1): 37-46
- Davies, F.S. and Bower, J. 1994. Water stress, gas exchange and fruit set of ‘Olinda’ Valencia orange trees in eastern transvaal area of South Africa. *Acta Horticulturae* 365:121-127.
- Espino, M.; Borges, A.; Da Cunha Barros, M.; Gambetta, G. y Gravina, A. 2005. Manejo de la floración y cuajado de frutos en tangor ‘Ortanique’. *Memorias II Simposio Investigación y desarrollo tecnológico en Citrus*. Montevideo, Uruguay. CD, 4p
- Flore, J.A. and Lakso, A.N. 1989. Environmental and physiological regulation of photosynthesis in fruit crops. *Hort. Reviews*, 11:111-157
- Germana, C., Continella, A. and Tribulato, E. 2001. Bio-agronomic effects on net shading on ‘Primosole’ mandarin. *Acta Horticulturae* 559:293-300
- Ghannoum, O., Conroy, J.P., Driscoll, S.P., Paul, M.J., Foyer, C.H. and Lawlor, D.W. 2003. Nonstomatal limitations are responsible for drought-induced photosynthetic inhibition in four C<sub>4</sub> grasses. *New Phytol.*159:599-608

- Gillaspy, G.; Bendavid, H. and Gruissem, W. 1993. Fruits: a developmental perspective. *Plant Cell*, 5:1439-1451
- Ginestar, C. and Castel, J.R. 1996. Responses of young clementine citrus trees to water stress during different phenological periods. *J. Hort. Sci.*, 71(4):551-559
- Goldschmidt, E.E. and Monselise, S.P. 1977. Physiological assumptions toward the development of a citrus fruiting model. *Proc. Intl. Soc. Citricultura*, 2:668-672
- Gómez-Cadenas A, Mehouchi J, Tadeo FR, Primo-Millo E. and Talón M. 2000. Hormonal regulation of fruitlet abscission induced by carbohydrate shortage in citrus. *Planta* 210:636-643
- Gómez-Cadenas, A., Tadeo, F.R., Talón, M. and Primo-Millo, E. 1996. Leaf abscission induced by ethylene in water-stressed intact seedlings of Cleopatra mandarin requires previous abscisic acid accumulation in roots. *Plant Physiol.*, 112:401-408.
- Gonçalves de Oliveira, J. 2005. Estresse luminoso: uma abordagem a partir das variáveis de fluorescência da clorofila a. En: *Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas*. Ed. Mansur, R., de Lima, E., Gomes, L. Maaze, U. Recife: UPFRE, Imprensa Universitaria: 182-191
- González-Altozano, P. y Castel, J.R. 2003. Riego deficitario controlado en 'Clementina de Nules' I. Efectos sobre la producción y la calidad de fruta. *Spanish J. of Agric. Res.*, 11(2): 81-92.
- Gravina, A. 1999. Ciclo fenológico-reproductivo en citrus. Bases fisiológicas y manejo. CSIC-Universidad de la República, Facultad de Agronomía: 55 p
- Gravina, A. 2002. Produção e exportação de mandarinas e híbridos do Uruguai. 7º Seminario Internacional de citros melhoramento. Bebedouro, S. Pablo, Brasil: 26-31.

- Gravina, A. 2007. Aplicación del ácido giberélico en Citrus: revisión de resultados experimentales en Uruguay. *Agrociencia*, XI (1): 57-66
- Gravina, A. 2007. Aplicación del ácido giberélico en Citrus: revisión de resultados experimentales en Uruguay. *Agrociencia*, XI (1): 57-66
- Guardiola, J.L. 1988. Factors limiting productivity in citrus: a physiological approach. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 1:381-394
- Guardiola, J.L. 1992. Fruit set and growth. In: Donadio, L.C. (Ed.): *Proc 2nd. Int. Seminar on Citrus Physiology*. Bebedouro, S. Pablo, Brasil:1-30.
- Herrero, M. 1992. From pollination to fertilization in fruit trees. *Plant Growth Regulation* 11:27-32
- Iglesias, D.J.; Cercós, M.; Colmenero-Flores, J.M.; Naranjo, M.A.; Ríos, G.; Carrera, E.; Ruiz-Rivero, O.; Lliso, I.; Morillon, R.; Tadeo, F.R. and Talon, M. 2007. Physiology of citrus fruiting. *Braz. J. Plant. Physiol.*, 19(4):333-362
- Iglesias D.J., Tadeo F.R., Primo-Millo E. and Talón M. 2003. Fruit set dependence on carbohydrate availability in citrus trees. *Tree Physiol.* 23:199-204
- Jifon, J.L. and Syvertsen, J.P. 2003. Moderate shade can increase net gas exchange and reduce photoinhibition in citrus leaves. *Tree Physiol.*, 23:119–127
- Kahn, T.L. and DeMason, D.A. 1988. Citrus pollen tube development in cross-compatible gynoecia, self-incompatible gynoecia, and *in vitro*. *Can. J. Bot.* 66(12): 2527–2532
- Kamienska, A. and Pharis, R.P. 1975. Endogenous gibberellins of pine pollen. II. Changes during germination of *Pinus attenuata*, *P. Coulteri* and *P. ponderosa*. *Plant. Physiol.* 56:665-659

- Kimball, J. 2005. Self Incompatibility: how plants avoid inbreeding. En: <http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/S/SelfIncompatibility.html>. 5 p.; consulta: noviembre 2008
- Kobashi, K., Gemma, H. and Iwahori, S. 2000. Abscisic acid content and sugar metabolism of peaches grown under water stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 125(4): 425-428.
- M.G.A.P. 2008. Encuesta Citrícola "Primavera 2007". DIEA, Serie Encuestas N° 259, 24 p.
- Mehouachi, J., Iglesias, D.J., Tadeo, F.R., Primo-Millo, E and Talón, M. 2000. The role of leaves in citrus fruitlet abscission: effects on endogenous gibberellin levels and carbohydrate content. *J. Hort. Sci. & Biotech.*, 75(1):79-85.
- Mesejo, C., Martínez-Fuentes, A., Reig, C., Juan, M., Almela, V. and Agustí, M. 2004. Effect of Cross-Pollination between Marisol and Fortune mandarin on fruit set and sugar content. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 2:459-461.
- Pimentel, C. 2005. Respostas fisiológicas à falta d'água: limitação difusiva ou metabólica? En: *Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas*. Ed. Mansur, R., de Lima, E., Gomes, L. Maaze, U. Recife: UPFRE, Imprensa Universitaria: 13-21
- Ranney, T.G. and Peet, M. 1994. Heat tolerance of five taxa of birch (*Betula*): physiological responses to supraoptimal leaf temperatures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119(2):243-248
- Raveh, E., Cohen, S., Raz, T., Yakir, D., Grava, A. and Goldschmidt, E.E. 2003. Increased growth of young citrus trees under reduced radiation load in a semi-arid climate. *J. Exp. Bot.*, 54(381):365-373

- Rivas, F., Fornes, F. and M. Agustí. 2008. Girdling induces oxidative damage and triggers enzymatic and non-enzymatic antioxidative defences in Citrus leaves. *Environmental and Experimental Botany* 64 (2008) 256–263
- Ruiz, R., García-Luis, A., Monerri, C. and Guardiola, J.L. 2001. Carbohydrate availability in relation to fruitlet abscission in *Citrus*. *Ann. Bot.*, 87:805-812
- Salisbury, F.B., Ross, C.W. 1994. *Fisiología vegetal*. Grupo Editorial Iberoamericana, México. 759 p.
- Saunt, J. 2000. *Citrus varieties of the world. An illustrated guide*. Sinclair Intl., Norwich, England. 160p.
- Soler, J. 1999. Reconocimiento de variedades de cítricos en campo. Generalitat Valenciana. Serie de divulgación técnica. N° 43: 187p.
- Syvertsen, J.P. and Lloyd, J. 1996. CO<sub>2</sub> assimilation of citrus leaves: from mesophyll conductance to gross primary productivity of trees in different climates. *Acta Hort.* 416:147-154
- Syvertsen, J.P., Goñi, C. and Otero, A. 2003. Fruit load and canopy shading affect leaf characteristics and net gas exchange of ‘Spring’ navel orange trees. *Tree Physiol.*, 23:899-906.
- Syvertsen, J.P., Jifon, J.L., Goñi, C. and Otero, A. 2004. Shade effects on citrus leaf gas exchange, fruit yield and quality. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 1:257-262.
- Taiz, L. y Zeiger, E. 2006 *Fisiología Vegetal*, Vol. 2. Ed. Universitat Jaume I, 1907 p.
- Talón, M. 1997. Regulación del cuajado del fruto en cítricos: evidencias y conceptos. *Levante Agrícola* 338, 27-37

- Talón, M., Mehouchi, J., Moltalván, J., Tudela, E. y Villalba, D. 1999. Factores que afectan a la abscisión y cuajado de los frutos de los cítricos. *Levante Agrícola*, 346:5-13.
- Talón, M., Tadeo, F.R., Juan, M., Soler, J., Agustí, M. y Primo-Millo, E. 2001. Mejora del cuajado del fruto de los cítricos mediante aplicaciones de ácido giberélico. *Fruticultura Profesional*, 116: 31-45
- Talón, M., Tadeo, F.R., Juan, M., Soler, J., Agustí, M. y Primo-Millo, E. 2001. Mejora del cuajado del fruto de los cítricos mediante aplicaciones de ácido giberélico. *Fruticultura Profesional*, 116: 31-45
- Talón, M., Zacarías, L. and Primo-Millo, E. 1990. Hormonal changes associated with fruit set and development in mandarins differing in their parthenocarpic ability. *Physiol. Plant.* 79: 400-406
- Talón, M.; Mehouchi, J., Iglesias, D.J., Tadeo, F.R., Lliso, I., Moya, J.L., Gómez-Cadenas, A. and Primo-Millo, E. 2000. Citrus fruitlet abscission: Physiological basis supporting the “competition hypothesis”. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 1: 602-604.
- Weis, E. 1982. Influence of Light on the heat sensitivity of the photosynthetic apparatus in isolated spinach chloroplasts. *Plant Physiol.* 70:1530-1534
- Yan-Ping, G., Hui-Fen, Z. and Liang-Cheng, Z. 2006. Photosynthetic characteristics and protective mechanisms against photooxidation during high temperature stress in two citrus species. *Scientia Hort.*, 108 (3): 260-267



#### 4. RESUMEN

Se estudió el efecto de factores de estrés ambiental y la polinización, en el cuajado final de frutos del tangor 'Ortanique', variedad autoincompatible. En condiciones de campo, se evaluó el sombreado de los árboles (M: mallas 35% sombra y SM: sin malla) y del riego (SR: secano y R: riego localizado en la fila). Desde floración hasta fin de caída fisiológica, se cuantificó el cuajado de frutos en ramas representativas. Adicionalmente, en cada una de las cuatro situaciones, se marcaron 120 brotes terminales y se aplicaron tres tratamientos: a) control, b) emasculados y c) emasculados y polinizados con polen de mandarina 'Nova'. Se registró periódicamente el potencial hídrico foliar y xilemático ( $\Psi_F$  y  $\Psi_X$ ) y en dos fechas la conductancia estomática ( $g_s$ ) y temperatura de hoja (TH) como indicadores de estrés. El cuajado final fue muy bajo en todo el experimento. Los árboles bajo malla presentaron mayor cuajado de frutos (0.52% M vs 0.21% SM), mientras que los niveles de riego no tuvieron efecto significativo. La proporción de frutos cuajados mostró una correlación alta y negativa con la temperatura de hoja, y positiva con el  $\Psi_F$  y la  $g_s$ . La polinización artificial incrementó en forma significativa el porcentaje de cuajado, en las condiciones bajo malla. Flores 'control' presentaron mayor porcentaje de cuajado que flores emasculadas, lo que sugiere que esta variedad presenta partenocarpia de tipo estimulativa. Se discuten estos resultados y su implicancia sobre la productividad de este cultivar.

**PALABRAS CLAVE:** *Citrus*; abscisión; déficit hídrico; estrés térmico; partenocarpia

## 5. SUMMARY

Environmental stress factors and pollination effects on final fruit set of self-incompatible 'Ortanique' tangor were studied. Under field conditions, two factors were evaluated: 'shadding' ('M': 35% flat shade nets and 'SM': without shadding) and 'irrigation' ('SR': no irrigation and 'R': drip irrigation). From full bloom to the end of physiological drop, fruit set was evaluated on representative branches. Additionally, in each situation, 120 leafy single flowered shoots were tagged, and three treatments were applied: a) control; b) emasculated and bagged; and c) emasculated and hand pollinated with 'Nova' mandarin. Leaf and stem water potential ( $\Psi_F$  and  $\Psi_X$ ) were measured periodically and stomatal conductance ( $g_s$ ) and leaf temperature (TH) in two dates, as stress indicators. Final fruit set was very low in all situations. Shadded trees registered significantly higher final fruit set (0.52% M vs 0.21% SM), while irrigation treatments had no significant effect. Fruit set proportion showed a high significant correlation with stress indicators: negative with TH and positive with  $\Psi_F$  and  $\Psi_X$  and  $g_s$ . Hand pollination significantly increased fruit set percentage under shadded conditions. Control had higher final fruit set than emasculated treatment, suggesting that this cultivar presents stimulative parthenocarpy. Results and their implications over productivity of this cultivar are discussed.

KEY WORDS: *Citrus*; abscission; water deficit; heat stress; parthenocarpy

## 6. ANEXOS

### Anexo 1. Modelos estadísticos utilizados

Para la variable ‘número medio de semillas por fruto’ el modelo utilizado fue

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_{l(i)} + \rho_j + (\alpha\rho)_{ij} + \beta_{l(i)} * \rho_j + \pi_k + \rho_j \pi_k + \alpha_i \pi_k + (\alpha\rho\pi)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

$Y_{ijkl}$ : número medio de semillas por fruto;  $\mu$ : media general;  $\alpha_i$ : factor sombra;  $\beta_{l(i)}$  bloque dentro de experimento, error usado para comparar factor sombra;  $\rho_j$ : factor riego;  $(\alpha\rho)_{ij}$ : interacción sombra\*riego;  $\beta_{l(i)}*\rho_j$ : interacción bloque dentro de experimento\*riego, error usado para comparar parcelas de riego;  $\pi_k$ : factor polinización;  $\rho_j*\pi_k$ : interacción riego\*polinización;  $\alpha_i*\pi_k$ : interacción sombra\*polinización;  $(\alpha\rho\pi)_{ijk}$ : interacción sombra\*riego\*polinización;  $\varepsilon_{ijkl}$ : residual, error de parcelas de polinización.

Para la ‘proporción de frutos cuajados en brotes individuales’ y ‘proporción de frutos con semilla’ el modelo utilizado fue:

$$Y_{ijkl} = \alpha_i + \beta_{l(i)} + \rho_j + (\alpha\rho)_{ij} + \pi_k + \rho_j \pi_k + \alpha_i \pi_k + (\alpha\rho\pi)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl} , \text{ donde: } Y_{ijkl} \text{ es el número de éxitos/número total.}$$

Para la ‘proporción de frutos cuajados en ramas’, el modelo utilizado fue:

$$Y_{ijkl} = \alpha_i + \beta_{l(i)} + \rho_j + (\alpha\rho)_{ij} + \varepsilon_{ijkl} , \text{ donde: } Y_{ijkl} \text{ es el número de éxitos/número total.}$$

**Anexo 2.** Evapotranspiración del cultivo 'ETc' (mm), precipitaciones (mm) y riego aplicado en la quinta (mm), para el período 01/07/05-12/01/06, a intervalos semanales.

