

DEPOSICIÓN DE POLEN EN EL CULTIVO DE PALTO 'HASS' EN CONDICIONES DE PERÚ

Santiago, Tania¹; Tadey, Sharon¹; **Escobedo, Víctor**¹; Ciprián, Geancarlo²; Alcaraz, María Librada³; Hormaza, Iñaki³

¹Departamento Técnico. Asociación de Productores y Exportadores de Palta 'Hass' del Perú – PROHASS. Correo-e: vescobedo@prohass.com.pe

²Facultad de Agronomía. Universidad Nacional Agraria La Molina, Perú.

³Departamento de Fruticultura Subtropical, IHSM la Mayora - CSIC -UMA, España.

Resumen

La polinización es considerada uno de los momentos clave en la producción en plantaciones comerciales, la tasa de éxito en esta etapa tiene un impacto directo en los rendimientos. El bajo porcentaje de flores que se convierten en fruto es una de las principales características del cultivo de palto. En este estudio se colectaron ~6,000 flores abiertas en estado masculino con la finalidad de evaluar la deposición de granos de polen, su germinación y crecimiento de tubos polínicos. Dicha recolección se llevó a cabo en tres zonas productoras de palto en Perú: Ica, Huaura y Chao, y durante tres momentos de la etapa fenológica de floración: inicio, mediados y final. Las flores se colocaron en tubos con solución Carnoy 3:1 (alcohol:ácido acético glacial) para su preservación. Las provenientes de Ica y Huaura se enviaron al Instituto La Mayora en España donde fueron analizadas, y las provenientes de Chao se analizaron en la Facultad de Biología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en Perú. Ambos procesos permitieron conocer la cantidad de granos de polen presentes en el estigma, y el alcance del crecimiento del tubo polínico. Los resultados mostraron que en general el número promedio de granos de polen adheridos al estigma es bajo, que la mayoría de las flores son polinizadas durante su fase masculina, y que el porcentaje de flores en estado femenino polinizadas es muy variable entre árboles. No se encontró ninguna correlación entre los resultados y distancia a árboles polinizadores, distancia a colmenas, producción, ni peso de fruta (calibres) de los árboles muestreados.

Palabras clave: Floración, Dicogamia protogínica, Polinización, Tubo polínico.

POLLEN DEPOSITION IN THE AVOCADO 'HASS' CROP UNDER PERU CONDITIONS

Abstract

Pollination is considered one of the key moments in production within commercial orchard, the success rate at this stage will directly impact on crop yields. The low percentage of flowers that turn into fruits is one of the main characteristics of avocado crop. In this study ~6,000 flowers were collected during male stage to assess the deposition of pollen grains in the stigma, their germination and pollen tube growth. The collection took place in three different avocado growing areas in Peru: Ica, Huaura and Chao, during three moments of the flowering phenology: early, mid and late. Flowers were placed in tubes with Carnoy 3:1 solution (alcohol:glacial acetic acid) for their preservation. Flowers from Ica and Huaura were sent to La Mayora Institute, in Spain for analysis, and the ones from Chao were analyzed in the Department of Biology of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos in Peru. Both processes allowed us to know the pollen grains on the stigma and the extent of pollen tube growth. The results showed that in general the number of pollen grains attached to the stigma is low, also most of the flowers were pollinized during its male phase, and that the percentage of flowers pollinized is very variable between trees. No correlation was found between results and tree pollinator distances, hives distances, yield, and fruit size (weight) of the sampled trees.

Key words: Flowering, Protogynous dichogamy, Pollination, Pollen tube.

Introducción

La polinización se considera como uno de los factores limitantes en la producción en plantaciones comerciales de palto. Para entender el bajo porcentaje de flores que se transforman en fruto en el palto hay que tener en cuenta las peculiaridades de su sistema de reproducción. A pesar de que las flores de palto presentan órganos femeninos y masculinos, éstos no son funcionales al mismo tiempo, este comportamiento se denomina dicogamia protogínica sincronizada (Davenport, 1986). La variedad Hass de acuerdo con su comportamiento se clasifica como tipo A. Las flores de tipo A abren en estado femenino por la mañana del primer día, cierran al medio día y no vuelven a abrirse hasta la tarde del segundo día, momento en el cual se encontrarán en estado masculino donde tiene lugar la dehiscencia de las anteras y la liberación de polen. Solamente cuando la flor abre en estado femenino, tiene lugar la polinización efectiva, es decir, la deposición de polen sobre el estigma de la flor termina en la fecundación del óvulo y, la posterior transformación de flor a fruto. Por este motivo en las plantaciones de palto 'Hass' normalmente se siembran cultivares complementarios de tipo B que muestran etapas florales opuestas, y se denomina variedad polinizadora o árboles polinizantes. Asimismo, hay estudios que han señalado que fruta del palto 'Hass' que proviene de una polinización cruzada con variedades que presentaran flores tipo B reduce la abscisión de frutos, en cambio, la fruta de 'Hass' que es polinizada con polen de 'Hass', aparentemente sufre una mayor caída natural (Bender, 1996).

Si bien un solo grano de polen puede dar origen a un tubo polínico que fertilice el óvulo, hay una mayor probabilidad de fertilización mientras mayor es la cantidad de granos de polen que se depositan en el estigma. Informes anteriores han demostrado que el porcentaje de flores con tubos polínicos que llegan al ovario se ven afectados por la cantidad de granos de polen depositados en el estigma (Alcaraz y Hormaza, 2019). La polinización efectiva ocurre cuando un número suficiente de granos de polen es depositado en la superficie del estigma, la deposición de un mínimo de 6 a 20 granos de polen por estigma para asegurar la fertilización ha sido ampliamente aceptado para el palto (Arpaia y Hofshi, 2004).

En este estudio se busca conocer el porcentaje de éxito en la polinización, analizando el porcentaje de flores que fueron polinizadas, y observando el crecimiento de los tubos polínicos en un microscopio de fluorescencia después de su tinción con azul de anilina. La microscopía de fluorescencia se ha utilizado durante años para detectar sustancias "similares a la callosa" como polisacáridos o glicoproteínas en los tejidos vegetales, las cuales pueden ser fluorescentes. Las paredes del tubo polínico contienen polisacáridos que absorben el azul de anilina, por lo que este

método es muy útil para detectar el alargamiento del tubo de polen en el interior del estilo hasta el ovario (Dashek, 2000). Al observar el porcentaje de éxito en esta etapa en laboratorio nos permitirá analizar la efectividad de distintos polinizadores y agentes polinizadores en campo como árboles polinizadores y uso de colmenas de abejas melíferas como parte de los programas de manejo del cultivo de palto 'Hass' en Perú

Materiales y Métodos

En estudio se llevó a cabo en tres fundos comerciales ubicados en la costa peruana: Chao (Trujillo), Irrigación Santa Rosa (Huaura) e Ica (Ica) que están señalados en la Figura 1. En cada fundo se marcaron árboles de palto 'Hass' a diferentes distancias de la variedad utilizada como polinizador en campo. En estos árboles se realizaron hasta cuatro recolecciones a lo largo del periodo de floración, en cada recolección se tomaron aproximadamente 20 flores por árbol.



Figura 1. Mapa de Perú indicando ubicaciones de huertos comerciales en Chao, Santa Rosa e Ica.

Las flores se recolectaron en estado masculino, para asegurar que hayan podido recibir polen durante toda su fase femenina, es decir, la flor se recolectó antes que culmine su ciclo de anthesis. Las flores se colocaron en tubos con solución Carnoy 3:1 (alcohol:ácido acético glacial) para su conservación, los cuales fueron rotulados de acuerdo a la fecha y campo de estudio.

Para evaluar la deposición de polen, la germinación de los granos de polen y el crecimiento de los tubos polínicos en las flores preservadas, estas se observaron con un microscopio de fluorescencia tras ser teñidas con azul anilina. Este proceso se llevó a cabo en dos laboratorios diferentes, las flores recolectadas de Ica y Santa Rosa se enviaron al Instituto La Mayora en

España donde fueron analizadas. Mientras que las flores recolectadas en Chao fueron analizadas en Perú, como se indica a continuación:

Instituto La Mayora, España. Los pistilos se lavaron durante 3 horas en agua destilada y se mantuvieron durante la noche a 4 °C en sulfito sódico al 5 %. Tras este tiempo se sometieron a presión en autoclave para ablandar los tejidos y posteriormente se aplastaron (squash) con azul de anilina al 0.1 % en PO_4K_3 0.1 N. Una vez montadas las preparaciones se visualizaron con un microscopio de fluorescencia de luz incidente para luz violeta Ortolux II.

Facultad de Biología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú. Los pistilos se lavaron en agua destilada, y se sumergieron por 3 horas en NaOH 6N a 60 °C para ablandar los tejidos, posteriormente se aplastaron (squash) con azul de anilina al 0.1 %. Una vez montadas se observaron con un microscopio de fluorescencia modelo OXION TRINO.

La recolección de flores fue como se describe a continuación:

- Chao, lote 1 – 1910 flores de 25 árboles
- Chao, lote 2 – 960 flores de 15 árboles
- Ica – 1808 flores de 30 árboles
- Santa Rosa – 1228 flores de 20 árboles

Todas las flores fueron analizadas en condiciones de laboratorio como se ha descrito, y la gran mayoría de árboles fueron cosechados su totalidad, pesando cada uno de los frutos que produjeron.

De las imágenes registradas en el microscopio, se procedió a contar el número de granos de polen adheridos al estigma, y se determinó el crecimiento de los tubos polínicos. Si bien todas las flores fueron colectadas en estado masculino, se consideró que la flor había sido polinizada en estado femenino cuando el tubo polínico pasaba el tercio medio del estilo. Asimismo, para el análisis, se consideró la distancia a los árboles de variedades polinizadoras (o tipo B), la distancia a las colmenas (abejas melíferas como agentes polinizantes), así como la producción (kg/árbol) y los pesos de cada fruta cosechada por árbol.

Resultados y Discusión

La cantidad promedio de granos de polen que se observaron adheridos al estigma de cada flor analizada (Cuadro 1), resultó ser un número bastante bajo, a diferencia de lo descrito en la literatura.

Cuadro 1. Número promedio de granos de polen adheridos al estigma de la flor de aguacate 'Hass'

Huerto	Granos de polen por flor
Chao (lote 1)	0.97
Chao (lote 2)	0.56
Ica	4.38
Sta Rosa	3.73

En Chao, para ambos lotes, el porcentaje de flores que fueron polinizadas en estado femenino es prácticamente 0 (0.1 y 0.3 %; Figura 1). En Ica solo el 23.7 % de las flores analizadas recibieron polen durante su apertura en estado femenino, y en Santa Rosa llega al 10.6 %. La mayor deposición de polen, para todos los huertos, ocurrió cuando la flor se encontraba durante la fase masculina.

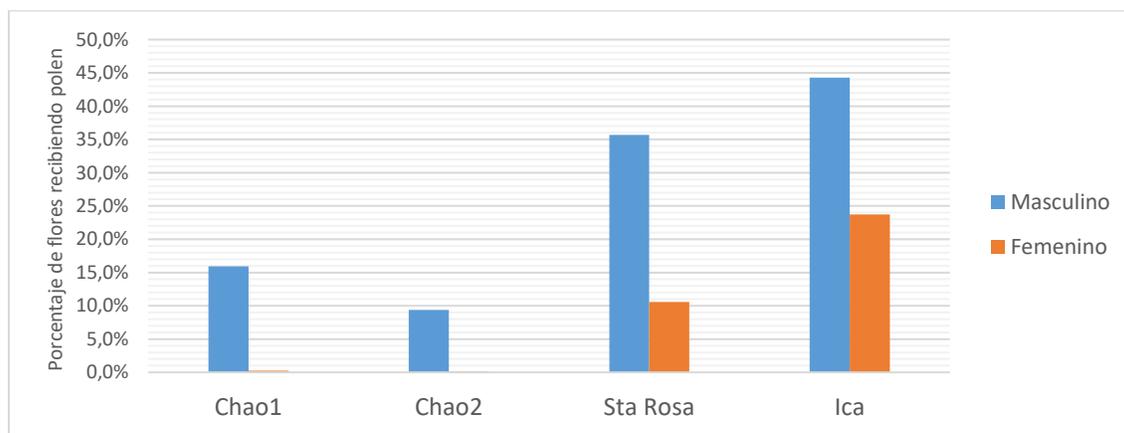


Figura 1. Porcentaje de flores de aguacate 'Hass' con presencia de granos de polen en el estigma que fueron polinizados en estado femenino o masculino.

En Ica se encontraron diferencias entre árboles en el porcentaje de flores que recibieron polen durante la fase femenina; así, el porcentaje de flores con polen osciló desde el 5 % hasta el 46 %

(Figura 2). Del mismo modo, en Santa Rosa encontramos variación en el porcentaje de flores que recibieron polen durante la fase femenina entre árboles, oscilando desde el 2 al 28 % (Figura 3).

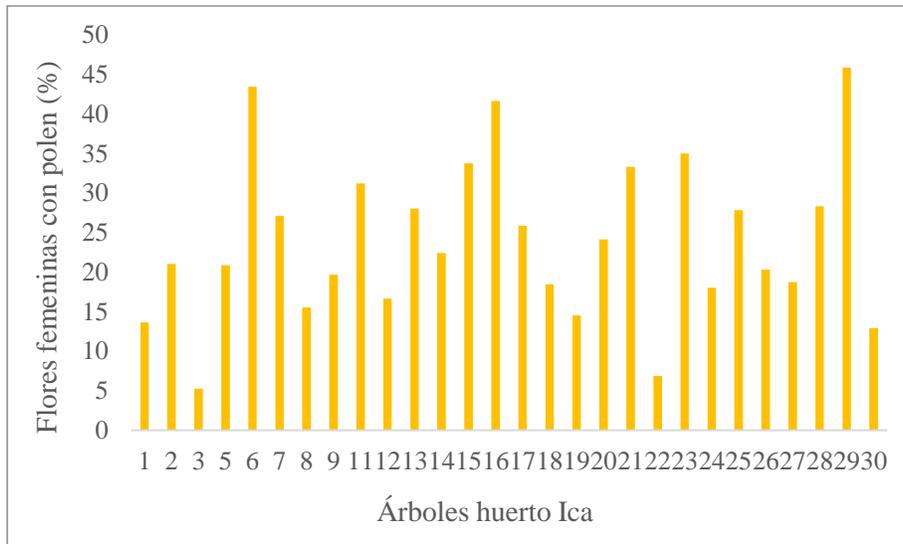


Figura 2. Porcentaje de flores de aguacate 'Hass' que reciben polen durante la fase femenina en cada árbol muestreado en el huerto de Ica.

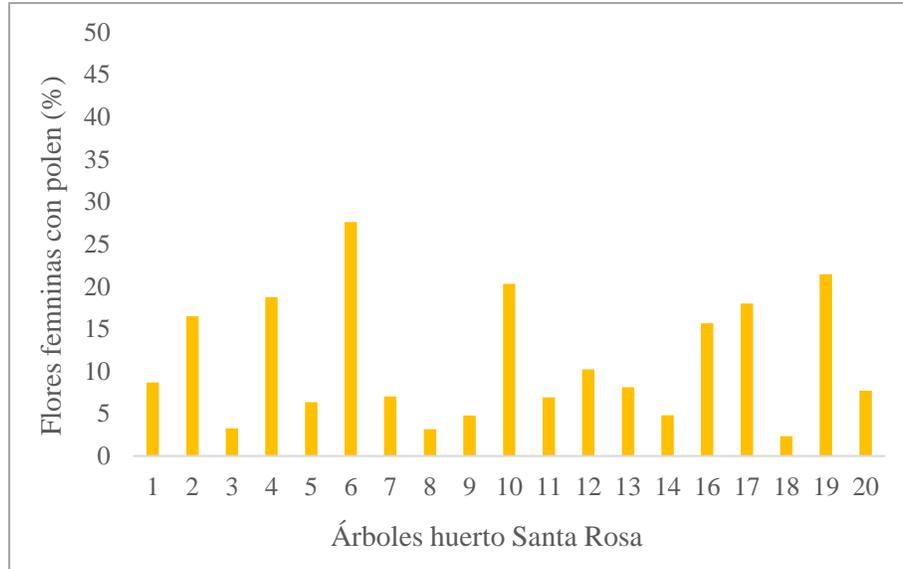


Figura 3. Porcentaje de flores de aguacate 'Hass' que reciben polen durante la fase femenina en cada árbol muestreado en el huerto de Santa Rosa.

En Chao, casi no se observó polinización de flores en fase femenina (Figura 4), y llegó a valores de 0.1 % de 6 a 10 granos de polen, y 0.01 % de 11 a 15 granos de polen. En Santa Rosa, el

0.08 % presentó más de 21 granos de polen y el 0.16 % entre 16 y 20 granos de polen. Por su parte, en Ica se observaron los porcentajes más altos, como 8.79 % entre 6 a 10 granos de polen y 11.45 % de 1 a 5 granos de polen. Sin embargo, estos valores resultan insuficientes según estudios hechos en otras latitudes.

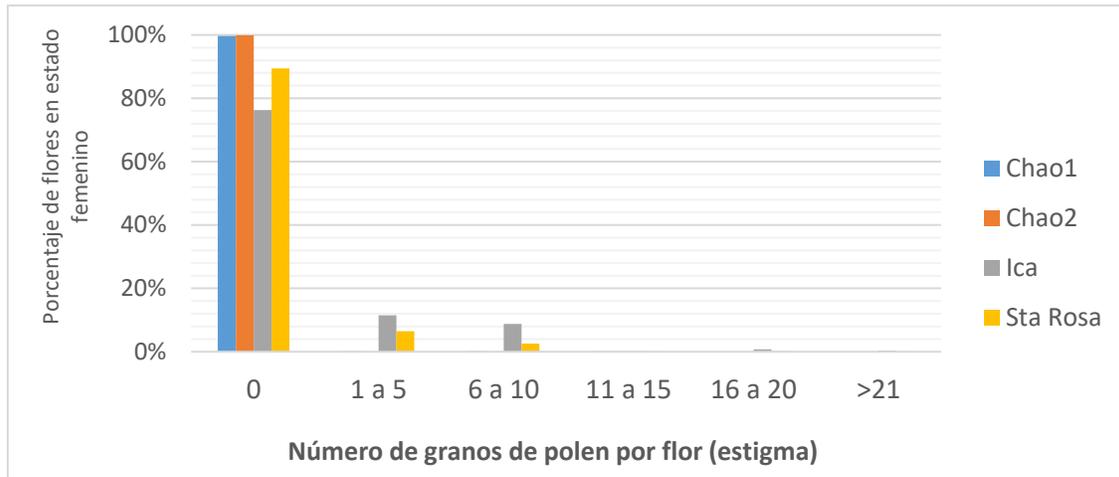


Figura 4. Número de granos de polen depositados en el estigma de aguacate ‘Hass’ durante la fase femenina en los huertos de Chao, Santa Rosa e Ica.

Al colectar las flores en diferentes momentos de la floración, y como se pudo apreciar para las condiciones de Chao (Figura 5), el mayor porcentaje de polinización ocurre entre inicios y mediados de octubre. Para Ica y Santa Rosa, se observó que, para finales de octubre, al final de la etapa fenológica de floración, el porcentaje de polinización en flores femeninas incrementó marcadamente, incluso en los últimos muestreos (fin de octubre) el porcentaje de flores femeninas polinizadas es mayor que el porcentaje de flores masculinas polinizadas. Esto coincide con el aumento de temperaturas.

A pesar de que investigaciones de polinizadores sugieren que la ubicación espacial de los polinizadores puede ser crítica debido al comportamiento de búsqueda de alimento de la abeja melífera, ya que la mayoría de las abejas tienden a buscar alimento en un radio relativamente pequeño de 1 a 4 árboles (Arpaia y Hofshi, 2004), los tres huertos comerciales tenían diferentes formas de colocar las colmenas en cuanto a su distribución en los lotes, y cuando se analizó la distancia a los árboles muestreados, no se encontró ninguna correlación. Además, se analizaron los distanciamientos a árboles polinizadores (‘Zutano’, ‘Ettinger’ y ‘Fuerte’), las producciones por

árbol, así como el peso promedio de todos los frutos cosechados, y en ningún caso se encontró correlación.

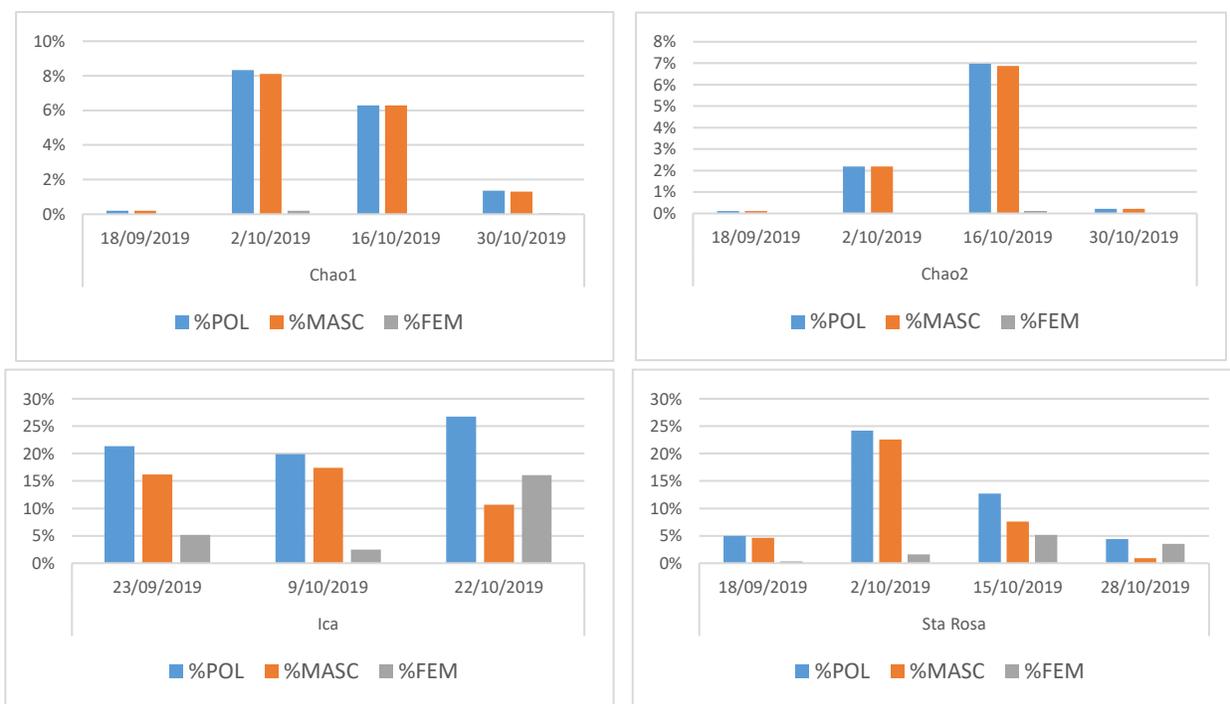


Figura 5. Porcentaje de polinización total (%POL), en flores en estado masculino (%MASC) y femenino (%FEM) de aguacate 'Hass', en diferentes momentos de recolección para los huertos de Chao, Ica y Santa Rosa.

En un trabajo de paternidad realizado por ProHass en el 2018, recibimos muestras procedentes de un fundo situado en Lambayeque y, a 21 metros de distancia de los polinizadores ('Fuerte', 'Zutano' y 'Ettinger'), no encontramos diferencias significativas en el porcentaje de frutos procedentes de cruzamientos. Del mismo modo, recibimos muestras de un huerto en Ica y los resultados fueron parecidos con 'Fuerte' y 'Zutano'. Para ambas zonas, la mayoría de los frutos procedían de autofecundación, lo que indicó que el polen que llegaba al estigma de la mayoría de las flores procedía de flores masculinas de 'Hass', y ocurría en el periodo del día en el que coexistían flores masculinas y femeninas en el mismo árbol o entre árboles de 'Hass'.

En el Cuadro 2 se observa la cosecha de algunos o todos los árboles muestreados de los huertos, y se tienen rendimientos calculados, y rendimientos reales que han sido proporcionados por las empresas con las que se trabajó. Dichos rendimientos reales están expresados en toneladas por hectárea, y corresponden al lote de donde se colectaron las flores para el ensayo.

Cuadro 2. Datos de cosecha de los árboles de aguacate 'Hass' muestreados durante el ensayo.

Huerto	Pesos totales	Cantidad de árboles	Peso (kg/árbol)	Árboles por hectárea	Rendimiento calculado (kg ha ⁻¹)	Rendimiento Real (kg ha ⁻¹)	Granos de polen por flor
Chao (lote 1)	82.12	24.00	3,421.5	434	1,485	3,150	0.97
Chao (lote 2)	303.83	15.00	20,255.4	434	8,791	20,700	0.56
Santa Rosa	209.99	10.00	20,998.5	352	7,391	18,400	3.73
lca	1,824.20	30.00	60,806.6	321	19,519	17,200	4.38

La teoría indica, al tener un bajo número de granos de polen por estigma, que habría una alta probabilidad de que la producción sea muy baja, pero los datos indican lo contrario. Al 2021, tomando en cuenta los datos de lo producido como país dividido por la cantidad de hectáreas que tiene Perú como industria, la media de producción es de 12.5 t ha⁻¹, lo que es superior a otros países productores. En este sentido, hay varios factores que podrían influir en estos resultados: floración muy intensa en general en la Costa peruana, donde se cultiva el 90 % de palto 'Hass'. Además, como lo han determinado Alcaraz y Hormaza (2019), las condiciones ideales de temperatura y humedad relativa para que exista fecundación ocurren en muchas zonas productoras de palta en Perú.

Según los resultados, se corrobora que generalmente durante la segunda apertura floral muchas de las flores reciben 15 veces más polen que en la primera apertura floral, en la que menos del 2 % de las flores son polinizadas siendo la misma flor, por lo general, la fuente de este polen (Davenport, 1989). Además, la autopolinización se lleva a cabo con mayor eficiencia en los cultivares tipo A debido al auto traslape más eficiente que tienen, lo que coincidió con este ensayo hecho bajo condiciones de Perú, que es un clima subtropical. Asimismo, respecto a las fechas de recolección del presente ensayo al final de la etapa fenológica de floración hay más porcentaje de polinización, y esto podría estar marcado por el clima, ya que la temperatura aumenta en esos meses, y también por la mayor actividad de las abejas. Finalmente, un resultado muy interesante para las condiciones de este estudio fue que se debe cuidar sobre todo la parte final de la floración que es la que más producción genera. Esto implica no descuidar el manejo de riego, nutrición, y evitar aplicaciones de agroquímicos en dicho momento.

Si bien recientes estudios realizados en España demuestran que la viabilidad del estigma y la capacidad de crecimiento del tubo polínico en flores masculinas son muy limitados, es un ensayo

que debería replicarse en Perú. La biología de la floración del palto es un tema muy amplio y hay mucho por investigar, y resultados como los de este ensayo nos invitan a seguir trabajando en este tipo de proyectos con la finalidad de entender, y sobre todo optimizar y mejorar los rendimientos en favor de los productores de palto.

Literatura citada

- Alcaraz, M. L., and J. I. Hormaza. 2019. Reproductive biology of avocado (*Persea americana*). *Acta Hortic.* 1231:23-28
- Arpaia, M. L., and R. Hofshi. 2004. La flor del palto y el proceso de polinización - cuaja: Ideas desde la perspectiva Californiana. 2° Seminario Internacional de Paltos. 29 septiembre – 1 octubre, 2004. Sociedad Gardiazabal y Magdahl Ltda. Quillota, Chile. 22 p.
- Bender, G. 1996. Pollinator, water help reduce fruit drop. *Calif. Grow.* 20(5):20-22.
- Dashek, W. 2000. *Methods in Plant Electron Microscopy and Cytochemistry*. Human Press Inc. Totowa, N.J., USA. 245 p.
- Davenport, T. L. 1986. Avocado flowering. *Hortic. Rev.* 8:257-289.
- Davenport, T. L. 1989. Pollen Deposition on avocado Stigmas in Southern Florida. *HortScience* 24(5):844-845.