



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Citricultura. El cuajado del fruto. Polinización y partenocarpia. Las giberelinas

Apellidos, nombre	Carlos Mesejo Conejos (carmeco@upv.es)
Departamento	Producción Vegetal
Centro	Universitat Politècnica de València



1 Resumen de las ideas clave

La transición de flor a fruto en desarrollo se denomina cuajado. En los cítricos, el cuajado se puede producir de un modo sexual, a través de la fecundación, o de un modo asexual, a través de la partenocarpia. La flor es hermafrodita y presenta entre 20 y 40 estambres y un ovario con 10-12 carpelos y varios óvulos en cada uno. Algunas variedades presentan autocompatibilidad y precisan de la polinización y la fecundación para que se produzca el cuajado. Otras, sin embargo, presentan autoincompatibilidad, y son capaces de desarrollar el ovario sin que se produzca la fecundación. En ambos casos, la síntesis de giberelinas, bien en las semillas, bien en las paredes del ovario, constituye el estímulo necesario para iniciar el desarrollo del fruto. La disponibilidad de carbohidratos resulta esencial para satisfacer la demanda energética del ovario durante el cuajado.

2 Introducción

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

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

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

La citricultura destinada al consumo en fresco está basada en variedades sin semillas y de alta calidad. Pero el periodo de comercialización, particularmente de las mandarinas clementinas, es restringido en el tiempo y, por tanto, concentra su oferta y provoca una caída de los precios. Con el fin de ampliar aquél, se introdujeron híbridos de frutos similares a las mandarinas y de maduración más tardía, como las mandarinas 'Fortune' y 'Nova' y los tangors 'Ortanique' y 'Ellendale'. Desde entonces empezó a detectarse la aparición de semillas tanto en las variedades citadas como en el grupo de las Clementinas, circunstancia que no se había dado hasta el momento. Cuando las plantaciones de híbridos y Clementinos se cultivan aisladas, la aparición de semillas es inexistente, dado el



carácter autoincompatible de los dos grupos varietales; sin embargo, cuando las plantaciones están lo suficientemente próximas como para que las abejas sean capaces de transportar el polen de unas a otras, se produce la polinización y fecundación cruzada y, con ello, la formación de semillas. Aunque así se mejoran el cuajado y el tamaño final del fruto, la gran cantidad de semillas presentes en éstos los hace comercialmente inviables.

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

3 Objetivos

- Comprender la anatomía de la flor y el proceso de la polinización y fecundación.
- Determinar el papel de las giberelinas en cuajado del fruto de los cítricos.

4 Desarrollo

4.1 La flor

Desde el punto de vista anatómico, la flor de los cítricos está perfectamente diseñada para facilitar la reproducción sexual. Así, es hermafrodita, es decir, está formada por una parte masculina o *androceo* y una femenina o *gineceo*, y los *sépalos* y los *pétalos* protegen al aparato sexual hasta el momento preciso en el que se debe producir la fecundación (Foto 1A). Sin embargo, en ocasiones, aparecen barreras fisiológicas que interrumpen o impiden el desarrollo normal del proceso con el fin de promover el intercambio de información genética entre individuos y evitar problemas de consanguinidad.

El gineceo se compone de *estigma*, *estilo* y *ovario* (Foto 1B). El *estigma* de los cítricos es de forma esférica y su color evoluciona de verde a marrón, pasando por amarillo, en función de su viscosidad y estado de madurez (Foto 2A y 2B). Su superficie está compuesta por numerosas células papilares epidérmicas (Foto 2C). Desde el punto de vista de la fecundación, la función del estigma es facilitar la adhesión del grano de polen y su germinación para que inicie el desarrollo de su tubo polínico.

En el proceso de maduración del estigma se producen cambios morfológicos y fisiológicos por los que degeneran las papilas (Foto 2D) y se secretan sustancias relacionadas con la hidratación y el reconocimiento del grano de polen, más que con su nutrición, ya que en el estigma el grano de polen es autótrofo. En los cítricos, la receptividad del estigma dura desde 1-3 días antes de la antesis hasta 6-8 días después. Si el grano de polen no llega al estigma durante ese período, la fecundación no se produce.



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

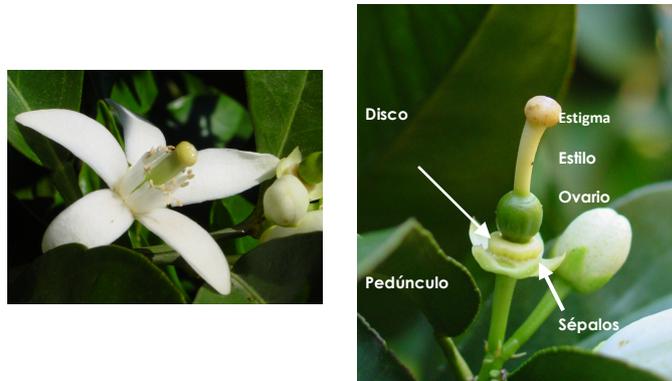


Foto 1. Flor de naranjo dulce 'Salustiana' en antesis (A) y en caída de pétalos (B)
(Cedidas por M. Agustí, Universitat Politècnica de València)

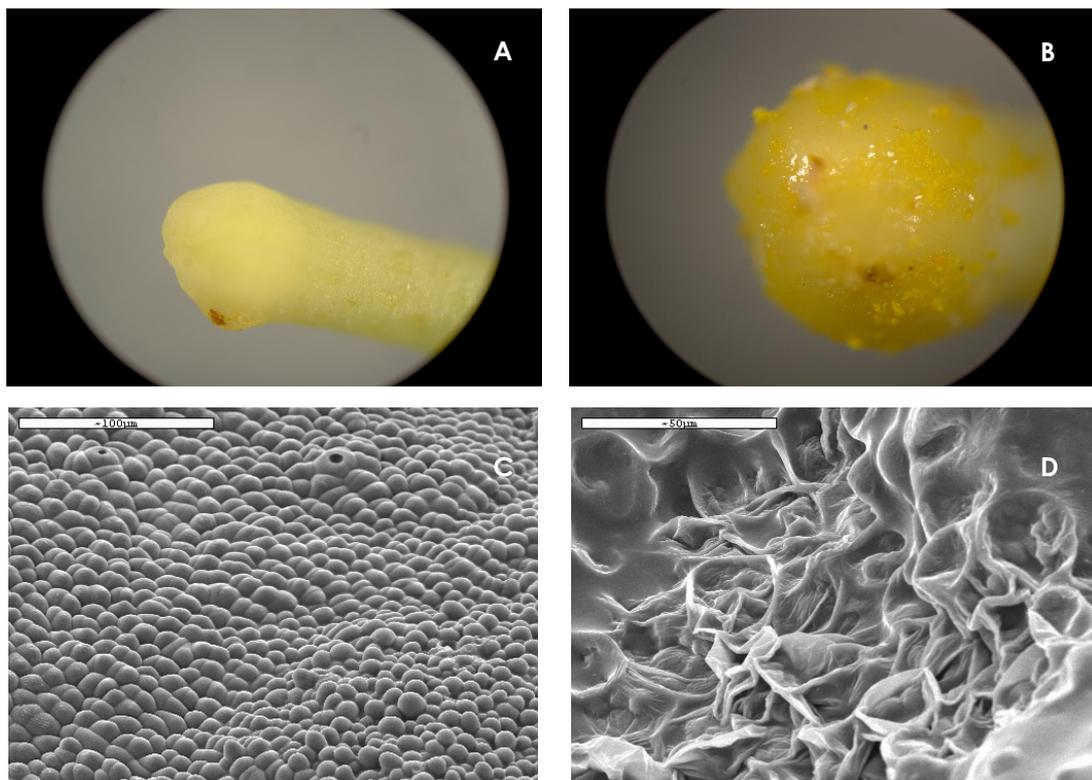


Foto 2. Estigma (A y B) y papilas estigmáticas (C y D) de una flor en preantesis (A y C) y antesis (B y D) de *Citrus limon*. A y B: 80x; C: 500x; D: 1000x.

El *estilo* es cilíndrico. En su interior se encuentran los canales estilares que se encargan de conducir el tubo polínico desde el *estigma* hasta el *ovario*. A lo largo de su recorrido se secretan sustancias relacionadas con la nutrición del tubo



polínico y con los mecanismos de incompatibilidad que interrumpen su desarrollo, como ocurre en el caso de las clementinas.

El ovario está formado por 8-10 *carpelos* unidos alrededor del eje floral formando los *lóculos*, donde se encuentran los *óvulos* (Foto 3). Éstos se organizan en 2 filas paralelas a lo largo del eje central, ocupando todo el lóculo y se unen a la placenta mediante el *funículo*. En la base de funículo se sitúan unos pelos epidérmicos que crecen en el lóculo hacia la entrada de los óvulos. La apertura a los lóculos de los canales estilares se encuentran entre las 2 filas de óvulos. Los tejidos que componen el óvulo maduro son los *tegumentos*, externo e interno, la *nucela* y el *saco embrionario*. La zona por donde los tegumentos se unen al funículo se denomina *chalaza* (Foto 3). En el extremo opuesto los tegumentos dejan una apertura denominada *micropilo* (Foto 3), por donde penetra el gametofito masculino para fecundar a la ovocélula y formar la semilla.

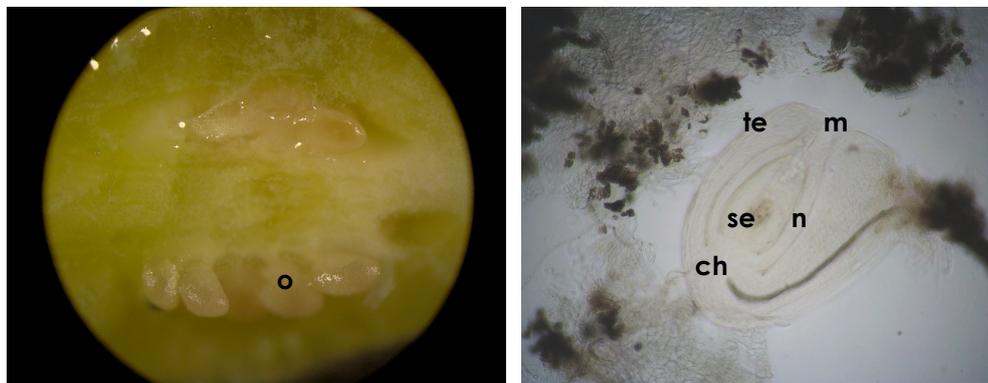


Foto 3. Sección longitudinal de un ovario de *Citrus limon* (A). Óvulo de *Citrus limon* (B). ce: canales estilares; o: óvulo; m: micropilo; ch: chalaza; te: tegumentos; n: nucela; se: saco embrionario.

Los *estambres* son los órganos masculinos. La flor de los cítricos contiene entre 20 y 40 estambres que rodean a la parte femenina. Cada uno está formado por un *filamento* que sujeta a una *antera* (Foto 4). Los filamentos son de color blanco y están soldados, entre sí, por la base. Las anteras son de color amarillo o crema pálido pero su color se debe a los *granos de polen* y no a sus propios tejidos. Los granos de polen se forman por un proceso de *microesporogénesis* a partir de células de las capas subepidérmicas de la antera joven. El grano de polen maduro está constituido por 2 capas. La capa externa, o *exina*, es delgada pero muy resistente, debido a una sustancia que la recubre y se deposita desde el tapete llamada *esporopolenina*. Su función es proteger los núcleos vegetativo y generativo hasta el momento de la germinación. Su parte externa está formada por una estructura llamada *tectum*, que da un aspecto reticulado a la superficie externa del grano de polen. La capa interna, o *intina*, se forma a partir de capas delgadas de celulosa por la parte interna de la exina. Cuando se produce la germinación es la intina la que se alarga formando el tubo polínico.

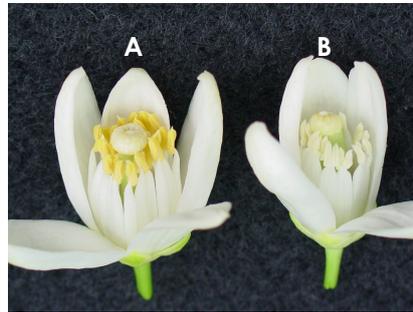


Foto 4. Flores de naranjo dulce 'Salustiana', androfértil (A), y 'Navelate', androestéril (B). El color de sus anteras indica la fertilidad (amarillo) o esterilidad (blanco) del polen.

Las *aperturas* (Foto 5A y 5B) del grano son zonas de exina más delgada y tienen 2 funciones: desde su poro central emerge el tubo polínico (Foto 5B) y además regulan los cambios de forma provocados por diferencias higroscópicas.

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

4.2 La fecundación

Cuando el *tubo polínico* alcanza el saco embrionario a través del micropilo, su célula generativa se ha dividido en dos núcleos espermáticos *haploides*. Uno de ellos penetra en el saco embrionario y se fusiona con la ovocélula, también haploide. Esta fusión genera un *zigoto*, diploide, que se divide dando lugar al *proembrión*. Las células delanteras orientadas hacia el centro del saco embrionario se dividirán sucesivamente hasta formar el *embrión*. El resto del proembrión se divide formando un tejido llamado *suspensor*, encargado de acercar al embrión hacia el tejido nutritivo en formación o *endospermo*. El segundo núcleo espermático se fusiona con el núcleo secundario del saco embrionario, diploide, dando lugar a un núcleo endospermico, triploide, que forma el endospermo. De los tegumentos se forma la *testa* o *espisperma* que rodea al resto de tejidos para formar la *semilla*. El endospermo resulta vital para el desarrollo del embrión una vez la semilla ha madurado e inicia la germinación. Aquel acumula almidón, durante el crecimiento, propiciado por el efecto sumidero que confiere el embrión a través de la síntesis de giberelinas. De ello se aprovechan el resto de los tejidos del fruto para acumular carbohidratos, reclamar agua y, así, crecer.

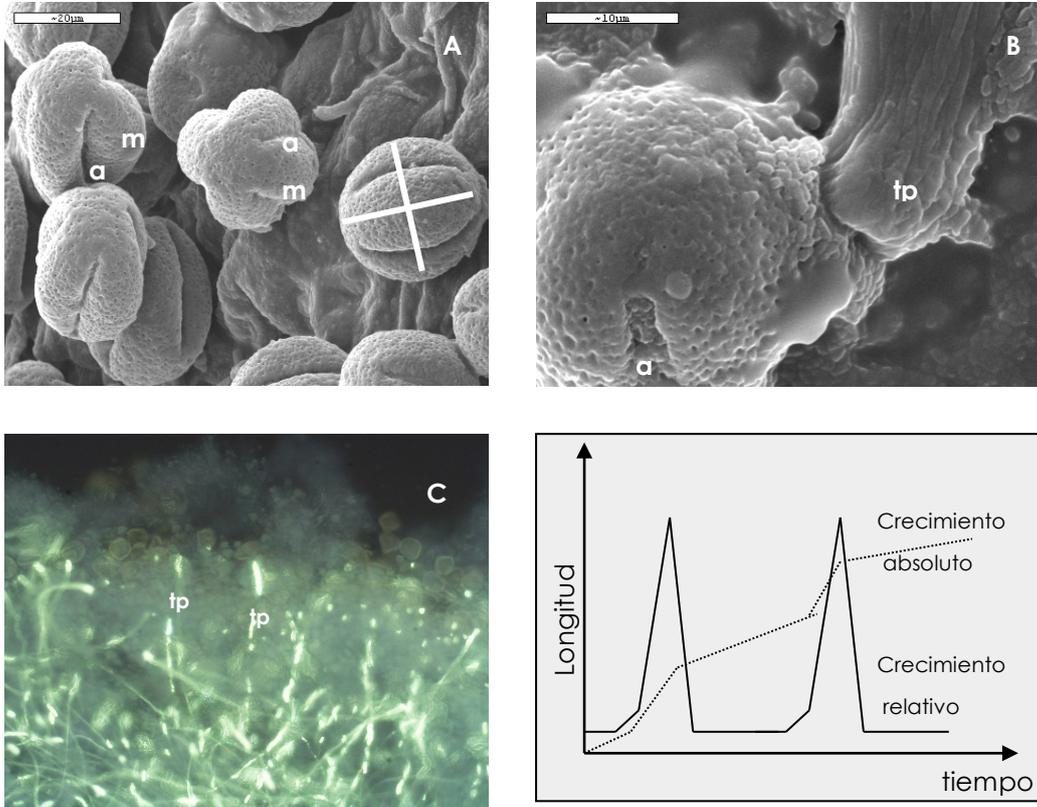


Foto 5. Microfotografía electrónica de barrido de granos de polen de mandarina Clementina, cv. 'Clemenules' (A, 2000x) y de la germinación in vitro de polen de mandarina Clementina, cv. 'Hernandina' (B, 3500x). Microfotografía al microscopio óptico de fluorescencia de la germinación in vivo de polen de Citrus limon; los tubos polínicos contienen calosa en su pared y ésta fluoresce cuando se la tiñe adecuadamente y se la ilumina con luz UV(C, 2000x). Esquema del modelo hipotético de crecimiento del tubo. Adaptado de: Geitmann, 1999 (D). a: apertura; m: mesocolpo; tp: tubo polínico.

Una vez producida la fecundación, el ovario deja de ser propiamente ovario para convertirse en fruto. La transición de ovario a fruto en desarrollo recibe el nombre de *cuajado*. El proceso está basado en la división celular y exige una gran cantidad de energía. Es mediante la síntesis hormonal que el fruto en desarrollo reclama dicha energía en forma de carbohidratos. En las variedades con semillas la síntesis de giberelinas que tiene lugar en los óvulos fertilizados es el estímulo que controla el desarrollo inicial del fruto, de modo que su eliminación o la emasculación, que evita su formación, detienen el desarrollo del fruto y provocan su abscisión. Pero en estos casos, la aplicación de ácido giberélico restituye el crecimiento. Además, la utilización de un inhibidor de la síntesis de giberelinas, el paclobutrazol, provoca la abscisión de los frutos. Estas evidencias sugieren que las giberelinas endógenas son las principales responsables del cuajado del fruto en los cítricos. Pero no se puede atribuir exclusivamente a las semillas la regulación del



desarrollo del ovario. En efecto, la mayor parte de las variedades cultivadas para consumo en fresco no poseen semillas y son, por tanto, capaces de desarrollar frutos sin el estímulo de éstas, antes mencionado.

4.3 La partenocarpia

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

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

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

En estas variedades en las que se desarrollan frutos sin semillas no se puede atribuir a éstas el estímulo de su crecimiento que, sin embargo, continua siendo regulado hormonalmente. Talón *et al.* (1990) demostraron que el naranjo dulce cv. 'Salustiana', sin semillas, mantenía el mismo patrón evolutivo de giberelinas internas en sus ovarios que el naranjo dulce cv. 'Blanca', con semillas (Figura 1). En las variedades sin semillas son las paredes del ovario las que sintetizan las giberelinas necesarias para el cuajado.

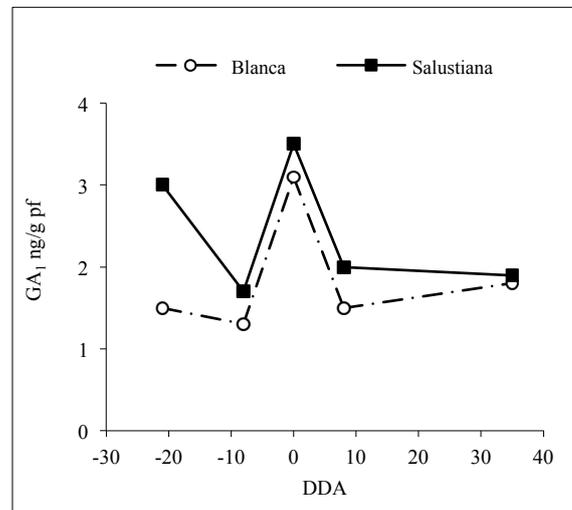


Figura 1. Concentración de GA₁ determinada por GC-MS durante el principio del desarrollo de los órganos reproductivos de *Citrus sinensis* cvs. 'Blanca' (con semillas) y 'Salustiana' (sin semillas). DDA: Días después de la antesis. Adaptado de Talón et al., 1990.

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

5. Cierre

- La flor de los cítricos es hermafrodita presentando entre 20 y 40 estambres, un estigma de tipo húmedo, un estilo con canales estilares y un ovario con 10-12 carpelos y varios óvulos por carpelo.
- El cuajado se produce a través de la fecundación en las variedades autocompatibles y a través de la partenocarpia en las variedades autoincompatibles y estériles.
- En ambos casos, cuajado sexual y asexual, son las giberelinas las hormonas responsables del desarrollo inicial del fruto.



6. Bibliografía

6.1. Libros:

- [1] **Agustí, M. 2003.** Citricultura (2ªed.), Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- [2] **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, Generalitat Valenciana, España.
- [3] **Geitmann A. 1999.** The Rheological Properties of the Pollen Tube Cell Wall. In: Cresti M, Cai G and Moscatelli A (Eds) Fertilization in Higher Plants. Molecular and cytological aspects. Springer-Verlag Berlin Heiderberg New York, pp 283-302
- [4] **Soler J. 1999.** Reconocimiento de variedades de cítricos en campo. Generalitat Valencia. Sèrie Divulgació Tècnica, n. 43, Valencia, España.

6.2. Artículos científicos SCI:

- [5] **Ben-Cheikh, W., Pérez-Botella, J., Tadeo, F.R., Talón, M. y Primo-Millo, E. 1997.** Pollination increases gibberellin levels in developing ovaries of seeded varieties of citrus. *Plant Physiol.*, 114: 557-564
- [6] **Distefano G, Gentile, A y Herrero M. 2011.** Pollen–pistil interactions and early fruiting in parthenocarpic citrus. *Annals of Botany* 108: 499–509.
- [7] **Herrero M. 2001.** Ovary signals for directional pollen tube growth. *Sex Plant Reprod.*, 14: 3-7.
- [8] **Mesejo, C., Martínez-Fuentes, A., Reig, C., Agustí, M. 2008.** Gibberellic acid impairs fertilization in Clementine mandarin under cross-pollination conditions. *Plant Sci.*, 175: 267–271.
- [9] **Talón, M., Hedden, P. y Primo-Millo, E. 1990.** Gibberellins in *Citrus sinensis*: A comparison between seeded and seedless varieties. *J. Plant Growth Regul.*, 9: 201-206.
- [10] **Talón, M., Juan, M., Soler, J., Agustí, M. y Primo-Millo, E. 1999.** Criterios de racionalización de las aplicaciones de ácido giberélico para mejorar el cuajado de los frutos cítricos. *Levante Agrícola*, 347: 128-133.
- [11] **Talón, M., L. Zacarías y E. Primo-Millo. 1992.** Gibberellins and parthenocarpic ability in developing ovaries of seedless mandarins. *Plant Physiol.*, 99: 1575-1581.