

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

Departamento de Producción Vegetal



**Factores Ecofisiológicos Relacionados con el  
Crecimiento Vegetativo, Floración y  
Desarrollo del Fruto del Aguacate**

**TESIS DOCTORAL**

presentada por

**SANDRA PAOLA GANDOLFO WIEDERHOLD**

para optar al grado de

**DOCTOR INGENIERO AGRÓNOMO**

Director

**Prof. MANUEL AGUSTÍ FONFRÍA**

**Valencia, Junio de 2008**





UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

D. **Manuel Agustí Fonfría**, Dr. Ingeniero Agrónomo, Catedrático de Universidad del Departamento de Producción Vegetal de la Universidad Politécnica de Valencia

Expone:

Que la presente Tesis Doctoral ‘Factores Ecofisiológicos Relacionados con el Crecimiento Vegetativo, Floración y Desarrollo del Fruto del Aguacate’, realizada por la Ingeniero Agrónomo **Sandra Paola Gandolfo Wiederhold** para optar al grado de Doctor se ha llevado a cabo bajo mi dirección en el Departamento de Producción Vegetal de la Universidad Politécnica de Valencia, y por la presente

Autoriza:

La presentación de la memoria adjunta a los efectos académicos oportunos.

En Valencia, 16 de junio de 2008

Fdo. Manuel Agustí Fonfría



## Agradecimientos

A mis Padres, Jorge y Emma, por su infinita paciencia, comprensión y constante apoyo en todos los momentos, los buenos y los malos, y por su inmenso cariño incondicional, sin el cual todo este trabajo no habría sido posible para mí. Gracias papás.

A mis hermanos, Carlos y Claudia, por su apoyo, cariño y comprensión al facilitarme lo más posible el tener a mis padres y sobrinitas, en la distancia, lo más cerca posible de mí, con chateos, mails, fotos y llamadas telefónicas. A mis pequeños tesoritos, Sofía y Karina, espero que me disculpen haberme perdido sus años más ricos de infancia, pero el cariño siempre es infinito, atraviesa montañas y llega a los corazones.

A mi profesor tutor, D. Manuel Agustí Fonfría, por darme la oportunidad de realizar este trabajo doctoral y facilitarme todos los medios, materiales y económicos, que requerí para llevarlo a buen término. A su equipo de trabajo, de Citricultura y Fruticultura: Carlos, Amparo, Carmina y Gracia, y a Vicente Almela, Mariano Juan, Carmela y Vicent, por los buenos momentos que hemos compartido y por su apoyo siempre que los necesité.

A la Cooperativa de Callosa d'En Sarriá Ruchey, por facilitar las fincas donde se realizaron los ensayos experimentales de esta tesis, y en particular, a Esteban Soler, por su apoyo en la realización de estos ensayos.

A mis compañeros y amigos del laboratorio de citricultura, que estuvieron o están aún, Luisa, Gema, Merce, Diego y Laura, Pau, Peter, Mayda, Norberto, Tato, Alfredo y Giuli, y a mis amigos de la universidad, Lupe, Julito, José, Juan, y a los profesores Fernando Fornés y Rosa Belda, con todos los cuales he compartido gratísimos momentos, para ellos, todo mi cariño y agradecimiento.

Al grupo de Botánica y Recursos Fitoquímicos, a D. Herminio Boira, M<sup>a</sup> Amparo Blázquez y Mercedes Verdeguer, por su amistad, cariño y simpatía, y por haberme hecho sentir como parte de su grupo, compartiendo muy buenos momentos juntos.

A mis amigos de Chile, Lolo, Mimi, Carol, Rossana, Marcelita, Mabel, Claudia, Carlos y Cristián, por formar parte de los recuerdos inolvidables y del cariño que recibí, a

la distancia. A la Tía Lina, por su gran amistad y apoyo, y su entrañable cariño que siempre recibí, desde la distancia. A Verito, por ser una gran amiga y un encanto de persona, con la que compartí un hogar, y muchas experiencias hermosas.

A mi amigo Dan Scheuer, de Israel, por su constante preocupación de mis avances y valiosos consejos y palabras de apoyo. A mis compañeros de Alemania, Lili, Nicolás, Vanessa y a mi gran amiga Birgit, por el apoyo que nos brindamos mutuamente en esa etapa de nuestras vidas, que generó una hermosa amistad. A mi amiga Franca, de Italia, por ser una persona inolvidable y encantadora, de quien me siento afortunada de haber conocido y compartido hermosos momentos.

A todos ellos, y a los que no he podido nombrar por espacio y tiempo, mi más sincero agradecimiento.

**Si** ves derrumbarse la obra de tu vida, y comienzas a reconstruirla sin una queja  
**Si** pierdes las ganancias de toda tu vida, y te lanzas de nuevo a la pelea sin decir nada a nadie de lo que es y lo que era.  
**Si** puedes amar sin que el amor te lleve a la locura,  
**Si** llegas a ser fuerte sin perder la ternura

**Si** nada que te hiera llega a hacerte la herida  
**Si** todos te reclaman y ninguno te precisa  
**Si** caminas junto a reyes con tu paso y con tu luz  
**Si** hablas con el pueblo y mantienes tu virtud.

**Si** meditas, observas y aprendes, sin que el conocimiento te conduzca al escepticismo o a la destrucción.  
**Si** sueñas sin ser esclavo de tus sueños  
**Si** piensas siendo tan solo un pensador.  
**Si** engañado no engañas

**Si** puedes ser bueno y sabio sin llegar a ser moralista o pedante.  
**Si** primero llega el triunfo y después la derrota, y a los dos impostores los tratas de igual forma  
**Si** mantienes en ti la cabeza tranquila, cuando todo a tu lado es cabeza perdida  
**Si** llenas el minuto inolvidable y cierto de sesenta segundos que te lleven al cielo,

Jamás serás esclavo de Reyes, Dioses, Fortunas y Victorias,  
y lo que es mejor que el Poder y la Gloria.....

**....serás Hombre hijo mío...**

**(R. Kipling)**





*A mis queridos padres, Jorge y Emma,  
a mis hermanos, Carlos y Claudia*



# Índice

|   |           |
|---|-----------|
| Resúmenes.....  | 1         |
| Resumen.....  | 3         |
| Abstract.....   | 5         |
| Resum.....  | 7         |
| <b>I. Introducción General.....</b>   | <b>9</b>  |
| 1. Ecofisiología del aguacate.....  | 11        |
| 1.1. Fotosíntesis.....  | 11        |
| 1.1.1. Efecto de la radiación solar.....  | 12        |
| 1.1.2. Efecto de la temperatura.....  | 15        |
| 1.2. Fluorescencia clorofílica.....   | 18        |
| 2. Fenología y desarrollo vegetativo del aguacate.....                          | 19        |
| 3. Biología reproductiva del aguacate.....                                      | 20        |
| 3.1. Floración y fenología.....   | 20        |
| 3.2. Inducción y diferenciación floral.....                                     | 22        |
| 3.3. Cuajado y caída de órganos reproductivos.....                              | 23        |
| 3.4. Factores que afectan a la floración del aguacate.....                      | 25        |
| 3.5. Influencia del fruto sobre la floración del aguacate.....                  | 28        |
| 4. Metabolismo de los carbohidratos en el aguacate.....                         | 31        |
| 5. Metabolismo de los lípidos en el aguacate.....                               | 34        |
| Objetivos Generales y Específicos.....  | 37        |
| <b>II. Materiales y Métodos.....</b>  | <b>39</b> |
| Material Vegeta.....  | 41        |
| Análisis de carbohidratos.....  | 49        |
| Análisis de clorofilas y mediciones SPAD.....                                   | 51        |
| Análisis de proteínas totales solubles y prolina.....                           | 52        |
| Extracción y determinación del ácido abscísico.....                             | 52        |
| Determinación de la eficiencia cuántica del PSII.....                           | 53        |
| Nitrógeno proteico y nitrógeno amoniacal (N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )..... | 54        |
| Nitrato y nitrito.....  | 55        |
| Análisis estadístico.....   | 55        |

|   |     |
|---|-----|
| <b>III. Resultados</b> .....  | 57  |
| <br>  |     |
| <b>Capítulo 1. Aspectos nutricionales y endógenos relacionados con el desarrollo del fruto. Relación con la intensidad de floración</b> ..... | 59  |
| 1.1. Azúcares solubles.....   | 61  |
| 1.2. Azúcares insolubles.....   | 69  |
| 1.3. Fracciones nitrogenadas.....   | 72  |
| 1.4. Clorofilas totales.....  | 76  |
| 1.5. Proteínas totales.....   | 80  |
| <br>  |     |
| <b>Capítulo 2. Determinación de la época durante la cual el fruto ejerce su influencia inhibidora de la floración</b> .....                   | 83  |
| 2.1. Efecto del fruto sobre el proceso de floración.....  | 85  |
| 2.2. Efecto de los frutos sobre el contenido en carbohidratos.....  | 85  |
| 2.3. Efecto del fruto sobre el contenido en clorofilas.....   | 91  |
| 2.4. Efectos del fruto sobre el contenido de proteínas totales solubles.....  | 93  |
| 2.5. Influencia de la permanencia del fruto sobre el contenido en fracciones nitrogenadas.....  | 94  |
| <br>  |     |
| <b>Capítulo 3. Interrelaciones Floración – Fructificación – Floración en el aguacate</b> .....  | 101 |
| 3.1. Azúcares solubles.....   | 103 |
| 3.2. Azúcares insolubles.....   | 110 |
| 3.3. Fracciones nitrogenadas.....   | 110 |
| 3.4. Clorofilas Totales.....  | 114 |
| 3.5. Proteínas totales solubles.....  | 115 |
| 3.6. Crecimiento vegetativo y reproductivo.....   | 116 |
| <br>  |     |
| <b>Capítulo 4. Efecto de Diferentes Niveles de Radiación sobre la Floración del Aguacate</b> .....  | 121 |
| 4.1. Azúcares solubles.....   | 123 |
| 4.2. Azúcares insolubles.....   | 131 |
| 4.3. Fracciones nitrogenadas.....   | 132 |

|   |            |
|---|------------|
| 4.4. Clorofilas totales.....  | 137        |
| 4.5. Proteínas totales.....   | 138        |
| 4.6. Crecimiento vegetativo y reproductivo.....   | 139        |
| <b>Capítulo 5. Factores Ecofisiológicos Relacionados con el Estrés y la Floración del Aguacate.....</b> | <b>143</b> |
| 5.1. Clorofilas y elementos minerales.....  | 145        |
| 5.2. Prolina.....   | 148        |
| 5.2.1. Dinámica de los contenidos de prolina en los diferentes órganos del aguacate .....               | 148        |
| 5.2.2. Efecto del a presencia del fruto sobre el contenido en prolina.....                              | 148        |
| 5.2.3. Efecto de la intensidad de floración sobre los contenidos de prolina.....                        | 151        |
| 5.2.4. Efecto de dos niveles de radiación solar sobre los contenidos de prolina .....                   | 153        |
| 5.3. Ácido Abscísico (ABA).....   | 154        |
| 5.3.1. Evolución del contenido de ABA en los órganos del aguacate.....                                  | 154        |
| 5.3.2. Efecto del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de ABA.....        | 155        |
| 5.3.3. Efecto de la intensidad de floración sobre los contenidos de ABA.....                            | 156        |
| 5.3.4. Efecto de la radiación solar sobre la concentración de ABA.....                                  | 158        |
| 5.4. Estudio de la fluorescencia clorofílica en el aguacate.....  | 160        |
| 5.5. Efecto de la fecha de rayado sobre el crecimiento vegetativo y reproductivo.....                   | 163        |
| <b>IV. Discusiones Generales.....</b>   | <b>167</b> |
| <i>Fisiología del metabolismo de los carbohidratos en aguacate.....</i>                                 | <i>169</i> |
| <i>El fruto y su influencia inhibitoria de la floración a lo largo de un ciclo productivo.....</i>      | <i>181</i> |
| <i>Metabolismo de los compuestos nitrogenados en aguacate.....</i>                                      | <i>184</i> |
| <i>Factores ecofisiológicos relacionados con el estrés y la floración en aguacate.....</i>              | <i>188</i> |

|  |     |
|--|-----|
| <b>V. Conclusiones Generales</b> ..... | 198 |
| <b>VI. Bibliografía</b> .....          | 200 |

## **Resúmenes**





## Resumen

En este estudio se analizó la respuesta y comportamiento estacional de diversos factores ecofisiológicos sobre la concentración de carbohidratos, fracciones nitrogenadas, proteínas y de indicadores de estrés (ácido abscísico, prolina, contenido en clorofilas y fluorescencia clorofílica), frente a la presencia del fruto, y la respuesta de la planta en relación a la brotación y floración siguiente. En los ensayos, fueron utilizados árboles de aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. 'Hass' adultos, injertados sobre patrones de raza mexicana en un huerto comercial localizado en Callosa d'En Sarriá, Alicante, España. Los ensayos involucraron dos niveles de radiación, tres intensidades de floración, y el seguimiento estacional de todos los tejidos de un brote y su fruto. Los resultados permitieron identificar, mediante la eliminación sucesiva del fruto, el período durante el cual el fruto ejerce su influencia inhibidora de la siguiente floración, siendo ésta el mismo momento desde de la floración hasta finalizada la segunda caída fisiológica de frutos. El comportamiento de los azúcares resultó modificado, tanto por los niveles de radiación, como por las intensidades de floración. La semilla fue un fuerte sumidero durante el período entre la primera y la segunda brotación vegetativa, acumulando la mayor parte del almidón en este período. El período de floración y primer crecimiento vegetativo se mostró significativamente dependiente de los azúcares solubles y almidón acumulados durante de la segunda brotación. En el período posterior a ésta, el fruto ejerce una significativa fuerza sumidero con la consiguiente acumulación de carbohidratos solubles en sus tejidos. Los carbohidratos que presentaron mayor relevancia en las épocas y eventos fenológicos analizados fueron la gluc-6-P, la manoheptulosa y el perseitol. La madurez del fruto se relacionó con disminuciones significativas de manoheptulosa y perseitol en sus tejidos. Estos dos azúcares mostraron tener movilidad libre en los tejidos del aguacate. La gluc-6-P estuvo relacionada con el abastecimiento de energía en los períodos de fuerte demanda. Las diferentes intensidades de floración influyeron significativamente en la brotación y renovación de brotes para la siguiente floración, y la ausencia de fruto permitió una mejor brotación y acumulación de reservas para sostener la siguiente floración. La segunda brotación vegetativa, que coincide con el final de la segunda caída fisiológica de frutos y la tercera fecha de eliminación de frutos, mostró ser dependiente de los fotoasimilados generados y disponibles durante el crecimiento lineal del fruto. La floración fue un fuerte sumidero de compuestos nitrogenados, en particular de amonio, y la intensidad de floración se vio

significativamente correlacionada con los contenidos de clorofilas, desarrollándose clorosis en los tratamientos con mayor floración. Los factores ecofisiológicos de estrés analizados evidenciaron tener un efecto significativo sobre la floración y la presencia del fruto. Se analizó la fluorescencia clorofílica, la concentración de prolina y de ácido abscísico (ABA) en condiciones de presencia o ausencia de floración y de presencia o ausencia de frutos. El rayado de ramas, por otra parte, modificó la productividad fotosintética máxima del PSII ( $F_v/F_m$ ), induciendo fotoinhibición. La luminosidad también produjo un efecto significativo en los parámetros de fluorescencia clorofílica, evidenciando la existencia de fotoinhibición en esta especie.

## Abstract

In this work we analyzed the effect of different ecophysiological factors on the concentration of carbohydrates, nitrogen fractions, proteins contents and on some stress indicators (abscisic acid, proline, chlorophyll content and chlorophyll fluorescence), with regard to the presence to fruit, and plant response to sprouting, fruit growth and flowering. Experiments were carried out on adults avocado trees (*Persea americana* Mill.) cv. 'Hass', grafted onto Mexican seedling, located in a commercial orchard in Callosa d'En Sarriá, Alicante, Spain. Treatments involved two radiation levels, three flowering intensities, and the time-course samplings of all tissues from fruited shoots. Results showed, by means of successive defruiting, the period during which the fruit inhibits the following flowering, being the second physiologic abscission the most effective season. The behaviour of the sugars was modified, both by radiation levels, as flowering intensity. Seed showed as a strong sink during the period between the first and the second vegetative growth, accumulating most of the starch in this period. Periods of flowering and first vegetative growth was significantly dependent of the soluble sugars and on the starch accumulated during the period of the second shoot growth. After this period, fruit becomes a significant sink for soluble carbohydrates, which accumulated in its tissues. The carbohydrates with higher relevance during the phenological events studied were gluc-6-P, manoheptulose and perseitol. Fruit ripening was related with a significant decrease of manoheptulose and perseitol. These sugars were identified as translocation sugars in avocado. Gluc-6-P was related with the energy supplied in periods of a high demand. Differences in flowering intensity modified significantly following sprout, buds sprout and following flowering. Fruit absence allowed for a better sprouting and carbohydrates accumulation to sustain next flowering. The second vegetative shoot growth, that is concomitant with the end of the second physiological fruit abscission and the third date of defruiting fruits, showed a significant dependence for photoasimilates synthesized and available during the linear fruit growth stage. The flowering was a strong sink of nitrogen compounds, particularly ammonium, and flowering intensity was inversely and significantly correlated with chlorophyll contents. The ecophysiological stress factors analyzed had a significant effect on next flowering irrespective to the presence of fruit. Chlorophyll fluorescence, proline concentration and abscisic acid (ABA), under conditions of presence or absence of

flowering and presence or absence of fruits, were also analyzed. On the other hand, scoring modified the maximum quantum yield efficiency of photosystem II ( $F_v/F_m$ ), inducing photoinhibition. The radiation also produced a significant effect in the chlorophyll fluorescence parameters, evidencing the photoinhibition light-induced in this species.

## Resum

En aquest estudi es va analitzar la resposta i comportament estacional de diversos factors ecofisiològics sobre la concentració de carbohidrats, fraccions nitrogenades, proteïnes i indicadors d'estrès (àcid abscísic, prolina, contingut en clorofil·les i fluorescència clorofil·lica), front a la presència del fruit, i la resposta de la planta en relació a la brotació i floració següent. Als assaigs, es van utilitzar arbres d'aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. 'Hass' adults, injertats sobre patrons de raça mexicana en un hort comercial localitzat a Callosa d'En Sarriá, Alacant, Espanya. Els assaigs involucraren dos nivells de radiació, tres intensitats de floració, i el seguiment estacional de tots els teixits d'un brot i el seu fruit. Els resultats van permetre identificar, mitjançant l'eliminació successiva del fruit, el període durant el qual el fruit exercís la seua influència inhibidora de la següent floració, seguint ésta el mateix moment des de la floració hasta finalitzada la segona caiguda fisiològica dels fruits. El comportament dels sucres va resultar modificat, tant per els nivells de radiació, com per les intensitats de floració. La llavor va ser un fort sumider durant el període entre la primera i la segona brotació vegetativa, acumulant la major part de l'almidó en aquest període. El període de floració i primer creixement vegetatiu es va mostrar significativament dependent dels sucres solubles i l'almidó acumulats durant la segona brotació. En el període posterior a ésta, el fruit exercís una significativa força sumider amb la conseqüent acumulació de carbohidrats solubles en els seus teixits. Els carbohidrats que van presentar major relevància a les èpoques i events fenològics analitzats van ser la glucosa-6-P, la manoheptulosa i el perseitol. La maduresa del fruit es va relacionar amb disminucions significatives de manoheptulosa i perseitol als seus teixits. Aquestos dos sucres van mostrar tindre movilitat lliure als teixits de l'aguacate. La glucosa-6-P va estar relacionada amb l'abastiment d'energia als períodes de fort demanda. Les diferents intensitats de floració van tindre una influència significativa en la brotació i renovació de brots per a la següent floració, i l'ausència del fruit va permetre una millor brotació i acumulació de reserves per a sostindre la següent floració. La segona brotació vegetativa, que coincideix amb el final de la segona caiguda fisiològica de fruits i la tercera data d'eliminació de fruits, va demostrar ser dependent dels fotoasimilats generats i disponibles durant el creixement lineal del fruit. La floració va ser un fort sumider de compostos nitrogenats, en particular d'amonio, i la intensitat de floració se

va veure significativament correlacionada amb els continguts en clorofiles, desenvolupant-se clorosis en els tractaments amb con major floració. Els factors ecofisiològics d'estrés analitzats van evidenciar tindre un efecte significatiu sobre la floració i la presència del fruit. Es va analitzar la fluorescència clorofil·lica, la concentració de prolina i d'àcid abscísic (ABA) en condicions de presència o ausència de floració i de presència o ausència de fruits. El rallat de rames, per altra part, va modificar la productivitat fotosintètica màxima del PSII ( $F_v/F_m$ ), induint fotoinhibició. La luminositat també va produir un efecte significatiu en els parametres de fluorescència clorofil·lica, evidenciant l'existència de fotoinhibició en aquesta espècie.



# **I. Introducción General**





## I. Introducción General

---

### 1. Ecofisiología del aguacate

Los factores medioambientales influyen sobre todos los aspectos del desarrollo de las plantas y determinan el potencial genético productivo alcanzado. En las plantas leñosas que crecen de forma natural, la radiación y el estrés hídrico son, comúnmente, los factores ambientales que tienen un mayor impacto (van Schaik *et al.*, 1993; Whiley, 1994). En los árboles frutales domesticados, sin embargo, la temperatura es también un factor decisivo (Sedgley y Grant, 1983; Whiley y Winston, 1987; Issarakraisila y Considine, 1994; Whiley, 1994), ya que su cultivo se extiende, a menudo, a medios más hostiles que los de su desarrollo natural.

El aguacate crece principalmente en tres zonas climáticas: climas fríos, semiáridos, con lluvias predominantes en invierno (California, Chile, Israel); climas subtropicales húmedos con lluvias predominantes en verano (este de Australia, México y Sud África), y climas tropicales y semitropicales con lluvias predominantes en verano (Brasil, Florida, Indonesia). Está dividido, además, en tres razas ecológicas: Mexicana, Guatemalteca y Antillana. Los cultivares dentro de cada raza presentan, generalmente, respuestas similares a las condiciones climáticas y también edáficas. Sin embargo, hay diferencias entre las razas y entre cultivares respecto a su adaptabilidad a las condiciones ambientales (Whiley y Shaffer, 1994), como es el caso del cv. 'Hass', híbrido entre la raza Mexicana y Guatemalteca, que presenta características intermedias entre ambas.

A grandes rasgos, las condiciones ideales de temperatura para esta especie están en torno a los 25-30°C para las diurnas, y entre 15 y 20°C para las nocturnas. Las temperaturas por encima de los 36°C causan serios daños, particularmente en la fecundación y el cuajado, siendo importante que ocurra un período de frío (alrededor de 10°C) en invierno para estimular la inducción floral (Galán, 1992).

#### 1.1. Fotosíntesis

La actividad fotosintética es un indicador del crecimiento y la productividad de un cultivo. En efecto, el crecimiento y la producción dependen marcadamente del reparto

de carbohidratos. Aumentar la producción en especies subtropicales de fructificación poliaxial terminal, como es el caso del aguacate, plantea un desafío para el manejo agronómico, ya que el árbol presenta una tendencia natural al crecimiento vegetativo que resulta en una mayor asignación de materia seca a éste en detrimento del desarrollo de órganos reproductivos (Whiley *et al.*, 1988; Wolstenholme, 1990).

Factores medioambientales tales como la luz, temperatura y concentración de CO<sub>2</sub>, afectan la fotosíntesis, la respiración y el reparto de carbohidratos. Así, árboles de aguacate sin fruto sometidos durante 6 meses a una atmósfera enriquecida con CO<sub>2</sub>, incrementaron la producción de materia seca, principalmente en las raíces (Schaffer *et al.*, 1999).

El reparto de fotoasimilados está regulado por las interacciones fuente-sumidero. Las fuentes son exportadores y los sumideros importadores netos de fotoasimilados (Ho, 1988). El orden de prioridad de la demanda es función de la tasa de crecimiento (actividad del sumidero) y del tamaño del sumidero (número de frutos). El orden, generalmente, es: semilla > pulpa de los frutos = ápices de brotes y hojas > cambium > raíces > tejidos de almacenamiento (Wolstenholme, 1990). Las hojas jóvenes, mientras se hallan en expansión, son fuertes sumideros que compiten con otros órganos demandantes de la planta hasta que alcanzan su tamaño definitivo, momento en que se convierten en exportadoras netas (Ho, 1988).

### **1.1.1. Efecto de la radiación solar**

La disponibilidad de luz incidente es el factor que, probablemente, ejerce la mayor influencia sobre la fotosíntesis en un huerto frutal. En el aguacate, hacia el final del crecimiento de brotes en primavera, la transmisión de luz hacia la zona de fructificación se reduce a un 40% respecto de a plena iluminación, y a distancias de 0,5 y 1,0 m dentro de la copa desde la zona de fructificación, ésta se reduce a 14% y 10%, respectivamente. Hacia finales del crecimiento de brotes de verano, la transmisión de la luz a la zona de fructificación con plena iluminación ha disminuido a un 13%, y en los puntos internos (0,5 y 1,0 m) a 9,7% y 6,3%, respectivamente (Whiley *et al.*, 1992).

La intensidad y duración de la iluminación son factores determinantes de la floración (Coutanceau, 1964), y es de amplio conocimiento que la floración y

fructificación son menos abundantes a la sombra que bajo plena luz (Meyer, 1960). Cuando la iluminación es baja, respecto de sus requerimientos, el crecimiento vegetativo se reduce, tanto en número como en longitud de los brotes, así como en el tamaño de las hojas, resultando en un menor desarrollo del árbol y una menor actividad fotosintética. Ello provoca diferencias de crecimiento entre las zonas sombreadas y soleadas de un árbol. Así, las partes altas de la planta, tienden a formar copas aparasoladas debido a una falta de renovación del material vegetativo que debería originarse desde las partes internas del árbol (Gil-Albert, 1992). De este modo, en el interior del árbol se originan numerosas ramificaciones y la densidad de ramillas exteriores reduce la iluminación, por tanto, la floración en su interior; sólo la parte exterior de la copa con iluminación adecuada presenta floración satisfactoria (Coutanceau, 1964).

En las hojas de la mayor parte de las especies el máximo de actividad fotosintética se alcanza con intensidades lumínicas muy por debajo de la luz solar. Investigaciones previas demuestran que en el manzano muchas de las hojas interiores reciben tan sólo el 1%, o menos, de la luz solar que reciben las de la periferia; es decir, aún bajo luz solar plena, muchas de las hojas (interiores) de esta especie no sintetizan a su capacidad máxima (Meyer, 1966).

Gil-Albert (1992) señala que la falta de luz afecta la inducción y diferenciación floral, en razón del bajo nivel de carbohidratos acumulados. Adicionalmente, el desarrollo de las flores y la posterior fructificación también se ven afectadas.

A este respecto, existen evidencias contradictorias en la literatura sobre los efectos de la luz en los árboles de aguacate. Los primeros estudios indicaban que el punto de saturación lumínica se alcanza, para una hoja individual del cv. 'Fuerte' cultivado en maceta, para 400-500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de PPF (flujo de fotones fotosintéticos) (Scholefield *et al.*, 1980). Para copas completas de árboles del cv. 'Edranol', cultivados en macetas, se ha demostrado una saturación de luz a 660  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de PPF, o a un 33% de la luz solar (Bower *et al.*, 1978). Sin embargo, en un huerto adulto del cv. 'Hass' en Queensland, Australia, Whiley (1994) observó que el punto de saturación se situaba a 1110  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de PPF, mucho más alto que los señalados para plantas en macetas. El autor también observó que la tasa fotosintética máxima neta ( $A_{\text{max}}$ ) de árboles en condiciones de cultivo (alrededor de 23  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) era significativamente mayor

que la de los árboles en macetas (de alrededor de  $7 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) (Bower *et al.*, 1978; Kimelmann, 1979; Scholefield *et al.*, 1980). Whiley *et al.* (1999) han señalado que esta menor  $A_{\text{max}}$  de los árboles en maceta, comparada con los que crecen en el campo, se debe, probablemente, a la restricción de la capacidad sumidero de sus raíces, lo que conduciría a una inhibición, por producto final, de la fotosíntesis. La mayor concentración de almidón foliar presentada en los árboles 'Hass' cultivados en macetas ( $\approx 61\%$  más alta que los árboles que crecían en el campo) confirma la hipótesis (Whiley *et al.*, 1999).

Se ha señalado que el punto de compensación de luz, es decir, el nivel de PPF al cual la fotosíntesis neta se iguala a cero, es de  $\approx 63 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  de PPF para las hojas de aguacate del cv. 'Hass' cultivado en macetas (Scholefield *et al.*, 1980) y de  $\approx 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  de PPF para hojas de plantas del cv. 'Hass' cultivadas en el campo (Whiley, 1994). Ambos valores suelen ser mayores que los encontrados en un día soleado dentro del interior de la copa del árbol (Whiley *et al.*, 1992). El punto de compensación de luz tan bajo que presenta esta especie refleja las condiciones ambientales bajo las cuales se desarrolló originariamente: un bosque tropical lluvioso. La tendencia al crecimiento vegetativo (Wolstehholme, 1990), ayuda a superar la competencia por luz en las copas del bosque tropical lluvioso, y el bajo punto de compensación lumínico contribuye a maximizar la fotosíntesis de los árboles en su hábitat espontáneo.

A pesar de ello, existe una correlación escasa entre la fotosíntesis neta de las hojas y la productividad de la planta. En efecto, el cálculo de la productividad de una planta usando la fotosíntesis neta foliar da resultados comparables sólo si se toman en cuenta la anatomía y morfología de la planta junto con su geometría y la absorción de luz por la copa (Bolhar-Nordenkamf, 1985). Copas completas sólo absorben un 65-70% de la energía radiante disponible, limitando de esta forma el potencial de producción (Jackson, 1980). En la mayoría de los huertos de cultivos templados, métodos tales como podas selectivas permiten la maximización de la luz absorbida por la copa. Pero la tecnología para los frutales tropicales no está tan avanzada y no es posible, generalmente, una poda selectiva, debido al crecimiento continuo que comporta la falta de un período de latencia. Así, los resultados con especies frutales de clima templado han demostrado los beneficios de maximizar la absorción de la luz dentro de la copa, sin

embargo, falta, todavía, información sobre estos fenómenos en especies tropicales, como es el caso del aguacate (Whiley y Schaffer, 1994).

El nitrato es absorbido por las plantas y reducido a nitrito por la enzima nitrato reductasa (NR), para luego ser reducido a amonio por la enzima nitrito reductasa (NiR). La absorción y reducción del nitrato están sometidos a diversos mecanismos de regulación, señales ambientales y metabólicas, principalmente la luz, el nitrato y diversas formas reducidas de nitrato y carbono. La luz es también la principal señal que controla la síntesis de NR y de NiR. El efecto estimulador de la luz está mediado por el fitocromo y a través de productos de la fijación fotosintética del CO<sub>2</sub>. De hecho, la inducción de la transcripción de los genes de ambas enzimas parece estar regulada por el balance interno entre azúcares solubles y aminoácidos, lo que constituye una prueba de que el metabolismo del nitrógeno y del carbono están regulados entre sí (Maldonado *et al.*, 2000).

### **1.1.2. Efecto de la temperatura**

La tasa fotosintética del aguacate puede ser afectada significativamente por pequeñas fluctuaciones de temperatura. Se ha señalado que el rango óptimo de temperatura para la fotosíntesis del aguacate cv. 'Edranol' cultivado en macetas es de 20-24°C (Bower *et al.*, 1978), y para árboles del cv. 'Fuerte' de 28-31°C. Scholefield *et al.* (1980) han señalado que a temperaturas por debajo de 15°C o por encima de 40°C, la tasa de fotosíntesis neta es, aproximadamente, un 33% de la observada dentro del rango de temperaturas óptimas. En huertos de aguacate en Queensland, Australia, Whiley *et al.* (1999) demostraron que la tasa fotosintética máxima para hojas del cv. 'Hass' decreció desde 19,0  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  durante el otoño, cuando la temperatura mínima diaria era  $\geq 14^\circ\text{C}$ , a 10,9  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en invierno, cuando era  $\leq 10^\circ\text{C}$ . También demostraron una reducción del 18% de la PPF requerida para el punto de saturación lumínico de asimilación de CO<sub>2</sub> en invierno, con el correspondiente incremento de un 67% en el PPF para el punto de compensación de CO<sub>2</sub> (de 30 a 50  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). En estudios con árboles 'Hass' en condiciones de campo, Whiley (1994) también observó que temperaturas por debajo de 10°C durante el invierno reducían significativamente la  $\Phi$  (productividad cuántica máxima aparente) de las hojas desde

0,055  $\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol}^{-1}$  fotones a 0,034  $\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol}^{-1}$  fotones. Exposiciones por un corto período de tiempo a temperaturas por debajo de 10°C pueden causar daño por frío, resultando en una inhibición de la fotosíntesis (Taylor y Rowley, 1971).

Esta reducción en la asimilación neta de  $\text{CO}_2$  de las hojas en invierno se debe, probablemente, a la inhibición de la síntesis de clorofila mientras la temperatura mínima diaria es  $\leq 10^\circ\text{C}$ , o a los sumideros relacionados, ya que la concentración de almidón en las hojas en invierno era un 35% mayor que en otoño. Una reducción de la  $A_{\text{max}}$  de los aguacates acompañada por un aumento de la concentración de almidón foliar fue demostrado por Schaffer *et al.* (1987), quienes concluyeron con la existencia de un mecanismo de feedback entre la fotosíntesis y la acumulación foliar de almidón. Durante el invierno, el crecimiento de los árboles de aguacate es relativamente quiescente, con acumulación de almidón en la mayoría de los órganos (Whiley *et al.* 1996a,b), y es probable que otros carbohidratos no estructurales, tales como glucosa y hexosas, también se acumulen en las hojas como resultado de la restricción de la actividad sumidero. Otros estudios (Stitt, 1991; Koch, 1996; Drake *et al.*, 1997) proponen que la acumulación en las hojas de estos productos finales, particularmente hexosas, puede reprimir genes que codifican para la ribulosa-1,5-difosfato carboxilasa-oxigenasa (Rubisco), resultando en una inhibición por producto final de la asimilación neta de  $\text{CO}_2$ .

Todo ello indica que el aguacate continúa fotosintetizando durante el invierno y puede, de esta forma, suplementar sus reservas de carbono. Liu *et al.* (1999) también señalan que durante el periodo invernal, los aguacates pueden almacenar carbono, como lo demuestra el incremento de los TSS y de la concentración de almidón en los brotes. Los autores demuestran un incremento importante de azúcares coincidente con el periodo anual de temperaturas más frías, lo que sugiere un mejor endurecimiento de los brotes frente al frío (Kramer y Kozlowski, 1979).

Al existir malfuncionamiento o daño de las membranas tilacoidales resulta evidente un desbalance entre la luz absorbida y la luz transmitida al proceso fotoquímico (transporte electrónico). Durante estos desbalances se ha señalado que se generan especies reactivas del oxígeno (ROS), tales como el radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y radicales hidroxilo ( $\text{OH}^{\cdot}$ ), que producen daños a nivel del aparato fotosintético. La producción de ROS es normal aún bajo condiciones de

adecuado balance energético, pero con el fin de eliminar estas sustancias tóxicas, las plantas desarrollan mecanismos enzimáticos y no enzimáticos para protegerse frente a las ROS e inclusive desarrollan mecanismos de fotoprotección basados en la síntesis de carotenoides para disipar el exceso de energía absorbida en forma de calor.

Dentro de los mecanismos de protección contra las ROS se ha demostrado que existe el denominado ‘ciclo del agua-agua’ (water-water cycle) en el que un conjunto de enzimas y metabolitos actúan coordinadamente para eliminar las ROS y así evitar daños en el aparato fotosintético. Se ha demostrado, asimismo, que los carotenoides, debido a sus numerosos dobles enlaces, son capaces de aliviar la presión de excitación de las clorofilas y, además, eliminar directamente los  $^1\text{O}_2$  (Demmig-Adams *et al.*, 1996; Miller *et al.*, 1996; Davison *et al.*, 2002). Además, un mayor contenido de xantofilas y en particular de zeaxantina (Demmig-Adams, 1990) en hojas se ha señalado como factor protector tanto contra el exceso de energía de excitación de las clorofilas, como de las membranas tilacoidales frente la presencia de ROS. Es, por tanto, factible que se evidencien procesos de estrés oxidativo al producirse daño o mal funcionamiento de las membranas fotosintéticas.

En los casos de daño o mal funcionamiento del aparato fotosintético, una fracción significativa de la energía absorbida no se deriva a la cadena transportadora de electrones, por lo que, para evitar daños, el exceso de energía debe ser liberado como calor (Demmig-Adams, 1990; Telfer *et al.*, 1994) o fluorescencia (Krause y Weis, 1991). De no ser así se produciría una sobreexcitación de los pigmentos de la antena del complejo receptor de luz que daría lugar a la sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (ROS), tales como el radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y radicales hidroxilo ( $\text{OH}\cdot$ ), los cuales son químicamente muy reactivos y producen daño al aparato fotosintético y a la estructura de la célula (Halliwell, 1987). Para evitar el colapso celular, las ROS deben ser rápidamente procesadas si se quiere prevenir el daño oxidativo (Noctor y Foyer, 1998). Con este propósito, las plantas cuentan con un complejo sistema enzimático y no enzimático finamente regulado, que se concentra en los cloroplastos y les permiten mantener a las ROS bajo estricto control (Asada, 1999). Además de estos mecanismos de eliminación de ROS, los carotenoides (Car) y otros metabolitos se sintetizan durante condiciones de estrés para disipar en forma de calor el

exceso de energía absorbida y regular el estado de óxido-reducción celular (Demmig-Adams, 1990; Telfer *et al.*, 1994; Hare y Cress, 1997).

Al respecto, resulta interesante los resultados presentados por Griffin *et al.* (2004) donde relaciona la presencia de manoheptulosa con la adaptación a elevados niveles de radiación en el taxa *Illium* L. Los autores plantean la hipótesis de que la manoheptulosa, al provenir por isomerización de la sedoheptulosa 1,7 bifosfato, y ésta a su vez de los intermediarios del ciclo de reducción del carbono (Ciclo de Calvin), sería un competidor que actuaría como sumidero interfiriendo con el adecuado reciclaje de la ribulosa 1,5 bifosfato. Este tema en aguacate es un campo que debiera ser estudiado con mayor profundidad en el futuro.

## 1.2. Fluorescencia clorofílica

La pendiente inicial de la primera fase de una curva de respuesta a la luz para la fotosíntesis suele definirse como la productividad cuántica máxima aparente ( $\Phi$ ). La estimación de  $\Phi$  se basa en la luz incidente, mientras que la productividad cuántica verdadera toma en cuenta la proporción de luz incidente reflectada o transmitida desde la superficie de las hojas. La productividad cuántica es la eficiencia de la utilización de la luz para la fotosíntesis, expresada como el número de moles de CO<sub>2</sub> fijados por mol de fotones o cuantos absorbidos por la hoja (Long y Hällgren, 1985). Las primeras citas sobre  $\Phi$  para aguacate proceden de mediciones realizadas en árboles del cv. 'Fuerte' cultivados en macetas bajo condiciones de laboratorio, y en los que la  $\Phi$  calculada fue de 0,013  $\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol}^{-1}$  fotones (Scholefield *et al.*, 1980). Este valor es bastante bajo si se compara con el valor promedio de  $0,0520 \pm 0,0014$  definido para las plantas C3 (Ehleringer y Björkman, 1977), y se debe, probablemente, al mecanismo de feedback de inhibición de la fotosíntesis, mencionada anteriormente, en árboles cultivados en macetas, en los que la Amax se reduce debido a la restricción del sumidero radicular. Estudios posteriores (Whiley *et al.*, 1999) determinaron que la  $\Phi$  de árboles adultos del cv. 'Hass' en condiciones de campo era de 0,055  $\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol}^{-1}$  fotones. Los autores también demostraron que la  $\Phi$  en aguacate estaba significativamente reducida por limitaciones de la capacidad sumidero de la A cuando los árboles crecían bajo condiciones de restricción radicular (0,021  $\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol}^{-1}$  fotones).



La fluorescencia clorofílica es, a menudo, utilizada como un indicador de estrés en las plantas (Krause, 1988). A altas PPF el frío puede dañar el fotosistema dos (PS II) (Smile *et al.*, 1988), lo cual puede cuantificarse midiendo el ratio de la fluorescencia clorofílica variable respecto de la máxima (Fv/Fm) (Björkman, 1987). Whiley (1994) señala que el Fv/Fm para aguacate está entre 0,79-0,81 para una temperatura mínima de 12,9°C. Cuando la temperatura mínima desciende por debajo de los 10°C, el ratio promedio de Fv/Fm es 0,41, indicando un daño del PS II inducido por frío.

Existen evidencias de que las hojas de aguacate contienen un mecanismo de aclimatación al calor para prevenir el daño foto-oxidativo del PS II sobre un moderado incremento en las temperaturas (de 21°C a 35°C). Havaux y Lannoye (1987) utilizaron mediciones de fluorescencia clorofílica para determinar la distribución de la energía de la luz absorbida entre el PS I y el PS II. A medida que la temperatura aumentaba, hubo una traslocación parcial de energía absorbida desde el PS II al PS I. Dado que el PS II es más sensible al calor que el PS I, se concluyó que el ajuste en la distribución de la luz a favor del PS II provee un mecanismo de protección que limita la sobre-excitación y el subsecuente daño foto-oxidativo del PS II (Havaux y Lannoye, 1987). A pesar de ello, se han detectado daños irreversibles del PS II por calor cuando las temperaturas exceden los 37°C (Havaux *et al.*, 1987).

Temperaturas mínimas de 8°C en julio, en Queensland, Australia, pueden provocar signos visibles de foto-oxidación de la clorofila (amarillamiento de hojas) (Whiley, 1994). La foto-oxidación se desarrolla, a menudo, tras un largo periodo de exposición a bajas temperaturas no congelantes y para un elevado PPF (Taylor y Rowley, 1971; Powles, 1984; Robinson, 1993). Así se explica que en Queensland en el mes de julio (invierno en el hemisferio sur) el aguacate presente fotoinhibición inducida por frío, como lo demuestra la disminución de la Fv/Fm (Whiley, 1994).

## **2. Fenología y desarrollo vegetativo del aguacate**

El aguacate se caracteriza por tener un crecimiento rítmico monopodial, es decir, con un crecimiento de una yema vegetativa terminal del eje central de cada brote que permanece y continúa su desarrollo año tras año, y es un ejemplo del modelo arquitectónico de Rauh, uno de los más frecuentes de las zonas templadas y tropicales.

El tronco forma ramas que son morfogenéticamente idénticas al tronco y las flores se originan lateralmente sin tener un efecto sobre el crecimiento de los brotes, aunque en algunos brotes existen flores en posición terminal, siendo el crecimiento subsecuentemente simpodial. Los brotes son los elementos más pequeños de éste modelo arquitectónico, presentan un patrón de crecimiento predeterminado y se pueden formar por prolepsis o silepsis. El predominio relativo de prolepsis y silepsis es establecido por la interacción entre la dominancia apical y la acrotonía. Esta interacción parece estar genéticamente determinada y refleja diferencias en la forma de los árboles entre los distintos cultivares (Thorp y Sedgley, 1992).

Las yemas pueden ser axilares o apicales. El árbol crece principalmente desde las yemas apicales, debido a que las yemas axilares se desprenden o permanecen en estado latente (Calabrese, 1992). El vigor del crecimiento completo del árbol y la producción de fruta dependen del tiempo y extensión de los eventos fenológicos, lo cual está bajo el control de la disponibilidad de carbono y energía y de su distribución (Wolstenholme y Whiley, 1989) en respuesta a las condiciones medioambientales (Scholefield *et al.*, 1985). Las hojas requieren alrededor de 40 días desde el desborre hasta la transición de sumidero a fuente (Whiley, 1990). Durante este período pueden competir por fotoasimilados con los frutos en desarrollo (Biran, 1979; Buchholz, 1986; Cutting y Bower, 1990).

El aguacate a lo largo del año puede tener uno o más ciclos vegetativos seguidos de un periodo de crecimiento radicular. Las raíces comienzan su crecimiento cuando el primer crecimiento vegetativo comienza a declinar. Posteriormente, comienza un segundo periodo de crecimiento vegetativo, restableciéndose de esta manera el equilibrio entre una fase de crecimiento radicular y otra vegetativa (Calabrese, 1992; Hernández, 1991).

### **3. Biología reproductiva del aguacate**

#### **3.1. Floración y fenología**

Las flores del aguacate están dispuestas en panículas que se forman en la parte terminal de las ramas (Calabrese, 1992; Galán, 1992). Las inflorescencias del aguacate pueden ser de dos tipos: determinadas, en las que el meristemo del eje primario forma

una flor terminal, e indeterminadas, en las que se forma una yema en el ápice del eje primario de la panícula que continúa con el crecimiento de un brote (Salazar-García, 2000).

El aguacate presenta dicogamia protogínea, esto es, una maduración a destiempo de los órganos masculinos y femeninos. Cuando el estigma está receptivo las anteras no liberan polen, o cuando no lo está se produce la liberación de polen. En este sentido, los cultivares de aguacate se clasifican en dos grupos: A y B. Las flores de los cultivares tipo A actúan como flores femeninas por la mañana y como masculinas la tarde del día siguiente. Por el contrario, las flores de las variedades tipo B actúan como femeninas por la tarde y como masculinas a la mañana siguiente (Salazar-García, 2000).

Este comportamiento de la flor del aguacate, sin embargo, se encuentra regulado por la temperatura ambiente. Cuando la temperatura diurna es de 25°C y por la noche no desciende de los 16°C, la flor se comporta como se describe anteriormente. Con días nublados o fríos, situación para la que la temperatura se mantiene por debajo de los 21°C, el comportamiento floral por la mañana es exactamente el inverso, el polen es liberado por la mañana y la parte femenina se presenta por la tarde (Calabrese, 1992).

Aubert y Lossois (1972) describieron 13 estados fenológicos dentro de la fenología de las especies arbustivas, repartidos en tres períodos: 5 estados para la fase vegetativa, 5 estados para la floración y 3 estados de fructificación. Sin embargo, dicha escala gráfica no clarifica la evolución de dichos estados y excluye el proceso dicógamo de la floración del aguacate. Salazar-García *et al.* (1998) plantearon en el aguacate una escala macroscópica y microscópica de 11 estados desde la yema cerrada hasta la antesis de la flor. Esta escala relaciona el aspecto externo de las yemas con el grado de desarrollo del meristemo floral, pero tampoco refleja la evolución, en este caso, de los estados femenino y masculino de la flor, ni los estados de fruto cuajado. Finalmente, Cabezas *et al.* (2003) realizaron una identificación de estados-tipo dentro del ciclo de la floración y fructificación del aguacate, considerando aspectos morfológicos de las yemas y el comportamiento de la floración respecto a la dicogamia que presenta. Los autores presentan un modelo fenológico con 10 estados, desde yema en latencia hasta el fruto tierno, basado en la propuesta de Aubert y Lossois (1972).

La duración de la floración es típicamente prolongada, en parte debido a que el proceso de inducción en otoño se prolonga entre dos y tres meses en áreas en las que las condiciones ambientales son más suaves. Temperaturas frías al inicio de la primavera prolongan la floración (Wolstenholme *et al.*, 1990).

### **3.2. Inducción y diferenciación floral**

Poco se sabe aún sobre la biología reproductiva de esta especie, y la mayoría de los trabajos se han hecho para la zona de California. Se ha señalado que los primeros signos anatómicos de la iniciación floral son detectables en otoño o comienzos de invierno, dependiendo de la raza de aguacate y a la localidad (Scholefield *et al.*, 1985; Thorp *et al.*, 1993). Además, se ha sugerido que el proceso de iniciación floral ocurre sólo después de que los brotes entran en un período de reposo (Davenport, 1982, 1986).

Estudios recientes sugieren que el proceso de iniciación comenzaría mucho antes (Salazar-García *et al.*, 1998, 1999). Dichos estudios señalan que, para el sur de California, la transición de estado vegetativo a reproductivo en la brotación de verano del cv. 'Hass' se presenta al final de la expansión de la brotación, es decir, desde finales de julio hasta agosto. De forma similar, Calabrese (1992) señala que la diferenciación de las yemas florales tiene lugar desde la parada de la última brotación vegetativa hasta la aparición de la inflorescencia.

Al final de la expansión de la brotación de verano (finales de julio para el HN), el eje del meristemo primario forma uno o dos ejes secundarios, en las axilas de las brácteas de la inflorescencia. Estos meristemos podrían desarrollarse más adelante y transformarse en florales, pero en este estado de desarrollo aún no es irreversible su transformación. Se ha sugerido que bajo condiciones ambientales desfavorables para el crecimiento reproductivo, el desarrollo de estos meristemos se reprime. Alrededor de cinco semanas después, a finales de agosto, cuatro meristemos florales secundarios ya están presentes, pudiéndose apreciar signos macroscópicos de la senescencia parcial de las brácteas más externas de las yemas apicales. Durante este estado de desarrollo, la yema está irreversiblemente inducida a flor. Dos meses más tarde, a finales de octubre, las brácteas de las yemas se separan, y la yema floral puede ser fácilmente reconocida

por su forma externa. En este estado de desarrollo de la yema pueden reconocerse 10 meristemos de ejes florales secundarios (Salazar-García *et al.*, 1998).

Al finalizar el proceso de inducción no existen cambios macroscópicos o anatómicos aparentes en las yemas apicales de 'Hass'; éstas permanecen con dos meristemos secundarios (Salazar-García *et al.*, 1999). En las yemas axilares, la situación difiere respecto de las apicales. Al finalizar el período de inducción, las yemas axilares poseen solamente dos meristemos de ejes secundarios florales, lo cual constituye el estado irreversible de la yema a flor (Salazar-García *et al.*, 1999).

La diferenciación y desarrollo florales en el aguacate ocurren, generalmente, en otoño e invierno, cuando la duración del día es inferior a 12 h y las temperaturas son relativamente bajas. La temperatura es el principal factor responsable de los cambios de la fase vegetativa a la fase reproductiva. Los cultivares de aguacates subtropicales, que se desarrollan con éxito en los trópicos a elevadas altitudes y en los subtropicos con inviernos fríos, pueden producir yemas florales sólo si se mantienen bajo regímenes de temperaturas frías (Gazit y Degani, 2002), requisito que no es indispensable, sin embargo, para los cultivares de aguacates que crecen en climas fríos semiáridos y en climas tropicales y semitropicales.

La expansión de la inflorescencia del brote es aparente en enero, aunque la iniciación floral ocurre varios meses antes (Salazar-García *et al.*, 1998). Las reservas de carbohidrato del brote podrían, de esta forma, ser una importante reserva para el desarrollo de las panículas, muy exigentes en energía procedente de los carbohidratos (Jackson y Sweet, 1972).

### **3.3. Cuajado y caída de órganos reproductivos**

Los cultivares de aguacate pueden llegar a producir miles de inflorescencias, cada una de las cuales, a su vez, pueden estar constituidas por más de 100 flores, de forma que el número total de flores por árbol puede ser más de un millón (Sedgley y Alexander, 1983).

Los frutos de aguacate que no cuajan se dividen en dos grupos, provenientes de flores polinizadas, pero en las que no se alcanzó la fertilización, y provenientes de flores

polinizadas y fertilizadas que dan lugar a un embrión normal y semillado (Lovatt, 1990).

Bajo condiciones favorables, los aguacates cuajan más frutos que los que el árbol es capaz de llevar hasta la madurez. En estas condiciones, la planta ajusta su capacidad de nutrir a los frutos modificando su número, esto es, provocando la caída masiva de frutos recién cuajados durante las primeras tres a cuatro semanas y nuevamente en el verano, cuando el fruto ya ha alcanzado entre un 10% y un 40% de su tamaño final (Whiley *et al.*, 1988; Wolstenholme *et al.*, 1990).

Sedgley (1987) observó que durante la primera semana después de la antesis el 80% de los frutos caídos procedían de flores polinizadas pero no fertilizadas. Sin embargo, un mes después de la antesis todos los frutos caídos habían sido fertilizados y presentaban un normal desarrollo del embrión y del endospermo. Razeto (2000) señala que esta caída de frutos podría tener su origen en un aporte limitado de asimilados o en una fuerte competencia por ellos entre frutos y brotes vigorosos que se desarrollan a la vez. Además, menciona que una última caída puede ocurrir en otoño, como consecuencia de un aporte insuficiente de agua y una elevación de la temperatura ambiente.

El fruto de aguacate permanece verde desde cuajado hasta la madurez y tiene una alta densidad estomática, con estomas activos similares a los de las hojas, lo que facilita el intercambio gaseoso (Blanke y Bower, 1990). Por otra parte, la concentración de clorofilas totales en el mesocarpo es sólo un 12% a 13% de la que posee la piel (Cran y Possingham, 1973; Blanke, 1991; Blanke y Whiley, 1995), de esta forma, un fruto tiene el potencial de realizar actividad fotosintética, contribuyendo así a sus propios requerimientos de carbono durante el crecimiento. Paralelamente, la refijación del CO<sub>2</sub> respiratorio dentro del fruto por la fosfoenolpiruvatocarboxilasa (PEPC) puede contribuir significativamente a la fotosíntesis de un fruto (Blanke y Lenz, 1989). Este modo de refijación del CO<sub>2</sub> en el fruto podría estar presente en el aguacate, debido a que la PEPC ha sido observada en el fruto de aguacate (Blanke y Notton, 1991), y podría contribuir significativamente al requerimiento de carbono del fruto para su crecimiento. Por otra parte, Vu *et al.* (1985) han sugerido que los órganos reproductivos fijan pequeñas cantidades de CO<sub>2</sub> atmosférico por medio de la ribulosa-bifosfato carboxilasa (RuBPC) en la vía respiratoria de las pentosas fosfato.

Todo lo anterior, es decir, la fijación de CO<sub>2</sub> en la luz, y que la contribución relativa de la fotosíntesis del fruto es mayor durante sus primeros estados de desarrollo, podrían indicar un factor que influye en la retención del fruto de aguacate, debido a que ésta se produce al mismo tiempo que el período de competición por fotoasimilados entre los sumideros vegetativos y reproductivos (Blumenfeld *et al.*, 1983; Wolstenholme *et al.*, 1990; Whiley *et al.*, 1991), lo cual se extiende hasta alrededor de 42 días después que el crecimiento de brotes de primavera ha comenzado (Whiley, 1990), período durante el cual los frutos tienen una tasa fotosintética neta positiva y así contribuyen levemente a sus propios requerimientos de carbono para el crecimiento (Whiley *et al.*, 1992). A medida que el fruto avanza en su desarrollo, su tasa de fotosíntesis neta llega a ser menor que el desprendimiento de CO<sub>2</sub> (respiración oscura) y la contribución relativa de sus propios requerimientos de carbono es muy escasa (Whiley *et al.*, 1992; Whiley y Schaffer, 1994).

### **3.4. Factores que afectan a la floración del aguacate**

La temperatura es uno de los factores principales del cambio de la fase vegetativa a la reproductiva. Los cultivares de aguacate subtropicales pueden sólo producir yemas florales si se mantienen bajo un régimen de temperaturas frías. Para el cultivar 'Hass', el régimen 23°C/18°C (día/noche) es el punto crítico cercano para la floración. Después de la inducción floral, el desarrollo de las yemas florales ocurre adecuadamente para temperaturas de 25°C/20°C (Nevin y Lovatt, 1989; Salazar-García *et al.*, 1999).

Por otra parte, los aguacates son especies de día neutro. Así, el cultivar 'Fuerte', mantenido a temperaturas inductivas, florece bajo días largos (15 h) y cortos (9 h). Sin embargo, el tiempo de floración se acelera con regímenes de días cortos (Buttrose y Alexander, 1978). Además, en altitudes elevadas, en México, se ha señalado que la inducción e iniciación de las yemas florales de 'Hass' puede ocurrir en julio y agosto, cuando el día es >12 h, para producir la floración atípica denominada "floración loca" de septiembre (Gazit y Degani, 2002).

El estrés hídrico no induce la floración bajo un régimen no inductivo de alta temperatura, pero la aumenta bajo un régimen inductivo de bajas temperaturas. Sin

embargo, en este caso la floración se retrasa y sólo se presenta alrededor de un mes después de que ha cesado el estrés hídrico (Chaikiattiyos *et al.*, 1994).

Existen numerosos trabajos orientados a controlar el comportamiento alternante del aguacate mediante el uso de reguladores del crecimiento (Salazar-García y Lovatt, 2000; Rossouw *et al.*, 2000; Köhne y Kremer-köhne, 1987; Wolstenholme *et al.*, 1990; Adato, 1990; Whiley, 2001). La aplicación de ácido giberélico influye en la iniciación y desarrollo floral, pero su efecto depende del estado de desarrollo en el momento de la aplicación (Salazar-García y Lovatt, 1998, 1999, 2000; Salazar-García *et al.*, 1998). Durante la inducción floral o dos semanas más tarde, aplicaciones de 100 mg por litro de ácido giberélico a las yemas apicales no interfiere en el proceso de inducción y la producción de inflorescencias apicales no se ve afectada. No obstante, cuando aplicamos a yemas axilares al final del período de bajas temperaturas, una gran proporción de éstas permanecen latentes, aparentemente suprimidas por el brote apical. Cuando el brote es eliminado, la mayoría de las yemas latentes producen inflorescencias (Salazar-García *et al.*, 1999). En etapas tempranas del desarrollo de la yema floral, antes de que ésta desborre, la aplicación de GA<sub>3</sub> reduce significativamente la producción de inflorescencias y aumenta la producción de brotes vegetativos. En el cv. 'Hass', aplicaciones a mediados de noviembre a una concentración de 1000 mg l<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> reducen la floración de las yemas apicales en la brotación de verano en un 66%, y aumentan la producción de brotes apicales vegetativos en un 63% (Salazar-García y Lovatt, 1998).

En estados más avanzados, por ejemplo en el momento del hinchamiento de las yemas, la aplicación de GA<sub>3</sub> produce una disminución significativa de la floración, sin incrementar la producción de brotes vegetativos, al mismo tiempo que aumenta la abscisión de yemas apicales en árboles jóvenes y el número de las que permanecen en reposo en árboles adultos. Aparentemente, el programa floracional de las yemas puede ser revertido con elevadas concentraciones de GA<sub>3</sub>, incluso cuando todos los meristemas de los ejes secundarios florales están ya formados. Aplicaciones de GA<sub>3</sub> también causan un desarrollo precoz del brote de inflorescencias indeterminadas (Salazar-García y Lovatt, 1999).

El paclobutrazol (PBZ), un triazol inhibidor de la biosíntesis de giberelinas (Davis *et al.*, 1988; Lever, 1986), reduce el crecimiento vegetativo de los árboles de aguacate



aplicado al suelo o al follaje (Köhne y Kremer-Köhne, 1987; Symons y Wolstenholme, 1990; Wolstenholme *et al.*, 1990). Whiley, Saranah y Wolstenholme (1992) señalan una reducción del crecimiento vegetativo del brote de primavera utilizando concentraciones de 2.5, 1.25 y 0.62 g l<sup>-1</sup>, logrando un incremento en materia seca de los frutos. La disminución del crecimiento vegetativo en primavera mejora la retención de frutos (Biran, 1979) e incrementa el contenido en calcio de éstos (Witney *et al.* 1990) mejorando, de esta forma, su vida poscosecha (Eaks, 1985). Köhne y Kremer-Köhne (1995) demostraron que las aplicaciones foliares de PBZ en plena floración, a concentraciones de 250 mg l<sup>-1</sup> aumentan el rendimiento total por árbol e incrementan el número de frutos por árbol de tamaño exportable.

Volker (2003) observó que las aplicaciones otoñales de Uniconazol-p (otro triazol inhibidor de la biosíntesis de giberelinas), a una concentración de 0,5% p/v aumentaron significativamente el número de panículas y el número de flores por panícula respecto del testigo sin tratar. El autor también señala una disminución del porcentaje de yemas vegetativas respecto de las reproductivas.

Otro punto a considerar es el de la madurez del brote y la concentración de carbohidratos de reserva. No todos los brotes desarrollan inflorescencia, especialmente después de un año “On” (año de alta producción). Por ejemplo, en experimentos de Salazar-García *et al.* (1998) y de Salazar-García y Lovatt (2000), el porcentaje de brotes florales en árboles maduros del cv. ‘Hass’ fue del 46% en un año “On” y de sólo un 13% en un año “Off” (año de baja producción). En alternancias bianuales extremas, los árboles no florecen en absoluto en la primavera del año “Off”. Durante el año “On”, cuando todos los brotes que crecen en verano florecen, los brotes débiles y sombreados que crecen en primavera y al final del otoño no lo hacen (Salazar-García *et al.*, 1998; Salazar-García y Lovatt, 2000).

Justo antes de la floración, en primavera, se encuentran los valores más elevados de carbohidratos de reserva (almidón) en las ramas más jóvenes, mientras que durante el período de diferenciación de las yemas de flor, en otoño, se encuentran los más bajos (Scholefield *et al.*, 1985). Estos resultados parecen descartar una relación directa entre la iniciación floral y un nivel alto de carbohidratos de reserva en la madera. Sin embargo, la formación de yemas florales puede no ocurrir en brotes con niveles inadecuados de carbohidratos. De esta forma, la determinación de los niveles de

carbohidratos en brotes con floración y sin floración podría aportarnos información valiosa sobre la relación entre el nivel de carbohidratos y la expresión floral.

Calabrese (1992) señala que la alternancia de cosechas en el aguacate es de origen genético, similar a la que se observa en otras especies frutales, como el olivo, y parece estar relacionada con el nivel de carbohidratos acumulados en el tronco y ramas, lo que parece promover la diferenciación de las yemas florales.

### **3.5. Influencia del fruto sobre la floración del aguacate**

El problema de la alternancia de cosechas puede iniciarse bajo condiciones climáticas que producen una elevada abscisión de flores y/o frutos, dando origen a un año de baja producción para, posteriormente, al año siguiente, aumentar la floración y con ello la cosecha. Por el contrario, condiciones climáticas óptimas para el cuajado producirán un año de elevada cosecha, que será seguido por un año de baja producción (Lovatt, 2004).

Se ha señalado al fruto como uno de los principales factores que reduce la floración en plantas leñosas, dando lugar a plantas alternantes (Monselise y Goldschmidt, 1982; Jonkers, 1979; Moss, 1971; Couranjou, 1970). Sin embargo, se desconoce si su efecto es continuo a lo largo del tiempo o si bien es estacional, con períodos de mayor influencia sobre el proceso de floración.

El aguacate presenta de forma notoria este comportamiento alternante (Salazar-García *et al.*, 1998), pero se dispone de poca información respecto de la fisiología reproductiva de esta especie para poder entender este proceso y la modulación que pueden ejercer ciertas prácticas agronómicas y las condiciones climáticas. Más aún, el aguacate es particularmente sensible a la alternancia de cosechas debido a su particular mecanismo de cuajado (Davenport, 1982, 1986), errático y altamente dependiente de las condiciones climáticas. Por otra parte, la inexistencia de una fecha clara para el período de inducción floral en el aguacate limita significativamente y hace más complicado encontrar una solución a la alternancia productiva (Buttrose y Alexander, 1978). Se debe añadir, además, que el fruto de aguacate presenta la particularidad de que la fase de división celular, que normalmente ocurre en la fase 1 y 2 de desarrollo del fruto en otras especies frutales, continúa en esta especie indefinidamente, tanto tiempo como el

fruto esté sujeto al árbol, por lo que alcanza el período de madurez y las células continúan dividiéndose, particularmente en el mesocarpo (Schroeder 1953), aunque a una menor tasa a la observada en las fases anteriores, con lo cual el fruto continúa creciendo y reclamando agua y nutrientes. Su curva de crecimiento corresponde a una sigmoidea simple (Gillaspy *et al.*, 1993).

Prácticas agrícolas, como cosechas tardías en busca de mayores contenidos de materia seca y aceite, tienden a incrementar el problema (Paz-Vega, 1997), mientras que cosechas tempranas o desfrutados mediante podas o aclareos químicos o manuales en un año “On” de producción, disminuyen el impacto de la alternancia productiva a través de un aumento del número de yemas florales (Myers *et al.*, 2002), pero en todos los casos, la cosecha final disminuye.

Las bases fisiológicas y bioquímicas de la alternancia productiva en los frutales no están bien definidas. Sin embargo, se manejan dos hipótesis para explicar la alternancia de cosechas. La primera sugiere que la floración y el crecimiento de frutos utilizan grandes cantidades de carbohidratos, de modo que un déficit de éstos limitaría estos procesos y daría lugar a un año de escasez productiva. El estudio de la alternancia de cosecha en los árboles frutales ha mostrado que las reservas de carbohidratos están relacionadas con la alternancia de cosecha y la producción (Monselise y Goldschmidt, 1982). Así, una alta carga frutal sería la principal causante de la reducción en la acumulación de carbohidratos durante el otoño y el invierno, dando por resultado una baja floración y un gran desarrollo vegetativo al año siguiente. Por el contrario, durante un año de baja producción, los árboles acumularían niveles más altos de carbohidratos durante el otoño e invierno, dando como resultado una intensa floración (Paz Vega, 1997; Van der Walt *et al.*, 1993).

En el aguacate se ha demostrado que una baja concentración de almidón es la consecuencia de una fuerte producción e, inversamente, a un año de baja producción le sigue una alta concentración de almidón en el tronco (Scholefield *et al.*, 1985). Bajas reservas de almidón también fueron correlacionadas con bajas intensidades de cuajado y producción (Van der Walt *et al.*, 1993). Sin embargo, también se ha demostrado (Kaiser y Wolstenholme, 1994) que una elevada concentración de carbohidratos de reserva no resulta, necesariamente, en una mayor floración, cuajado de frutos y producción, ya que

las reservas de carbohidratos pueden ser también utilizadas para el crecimiento vegetativo (Kaiser y Wolstenholme, 1994).

Scholefield *et al.* (1985) afirman que en otoño la concentración de carbohidratos es mínima, al mismo tiempo que tienen lugar una disminución de la actividad vegetativa, lo que se traduce en una menor competencia entre desarrollo vegetativo y reproductivo. Estos autores señalan que, de acuerdo con ello, la iniciación floral en el aguacate tiene lugar cuando los niveles de carbohidratos son mínimos, existiendo entonces una estrecha relación entre los niveles de carbohidratos y la iniciación floral. Los bajos niveles de carbohidratos podrían ser la causa del detenimiento del crecimiento vegetativo y ser este factor el determinante, en mayor grado, de la iniciación floral.

En el aguacate, los crecimientos vegetativos ocurren justo cuando los niveles de reservas en las ramillas son muy bajos. Los niveles más altos de reservas de almidón en la madera se encuentran en invierno, coincidiendo con la detención del crecimiento vegetativo. Estas reservas descienden rápidamente durante la floración, para encontrarse en sus niveles más bajos durante el verano, momento en el que ocurre la abscisión de frutos (Whiley y Wolstenholme, 1990). Esta acumulación de almidón en invierno determina el mantenimiento del fruto en el árbol.

En las inflorescencias indeterminadas, las hojas compiten por fotoasimilados con las flores y el fruto en desarrollo hasta que alcanzan  $2/3$  de su expansión total (Whiley, 1990). Una vez que los frutos comienzan a desarrollarse, la dirección del transporte de fotoasimilados cambia en favor del crecimiento del fruto (Ho, 1992).

Un hecho adicional que se utiliza para apoyar la hipótesis de que la disponibilidad de carbohidratos podría ser el regulador en el ciclo de la alternancia productiva es el gran contenido en aceites del aguacate, cuya acumulación es energéticamente muy costosa. Si lo comparamos con otros frutos, tales como manzanas, naranjas y plátanos, las cantidades de azúcares que almacenan son mucho menores, pero su alto contenido en aceite podría explicar la drástica reducción de las reservas de carbohidratos en un año de alta producción.

La segunda hipótesis relaciona la alternancia productiva con el papel de los reguladores de crecimiento (PGRs) producidos por la semilla en la inhibición de la floración del año siguiente (Paz Vega, 1997; Van der Walt *et al.*, 1993). En el aguacate, el ácido giberélico producido por el endocarpio del fruto se ha relacionado con el

descenso de la floración y la producción de fruta (Martens *et al.*, 1994; Van der Walt *et al.*, 1993). El papel de las reservas de carbohidratos queda, bajo este punto de vista, en entredicho (Liu *et al.*, 1999).

Hasta el momento, la hipótesis del control hormonal de la alternancia de cosechas es aceptada, en términos generales, como un proceso inhibitorio de un fenómeno espontáneo producido en la yema, sin la necesidad de un período inductivo en sí (Martínez-Fuentes *et al.*, 2004; Goldschmidt y Samach, 2004).

Es sabido que las giberelinas están involucradas la floración de las plantas (Goldschmidt y Samach, 2004). Se ha hipotetizado que las giberelinas producidas por la semilla previene la formación de yemas florales durante el año On de cosecha en otras especies de árboles frutales (Jonkers, 1979; Ebert y Bangerth, 1981; García-Luis *et al.*, 1988). Sin embargo, muchos factores hacen difícil el estudio de la alternancia de cosecha, por ejemplo, factores nutricionales, hormonales y climáticos y otros factores derivados de reacciones endógenos implicadas en la competencia entre órganos en crecimiento.

Scholefield *et al.* (1985) mencionan que el cese del crecimiento vegetativo se relaciona con una disminución en la producción de giberelinas, permitiendo la iniciación de yemas florales, y, por otra parte, los frutos se caracterizan por su intensa demanda metabólica. Según Wright (1989) estos dos factores explicarían el efecto de los frutos sobre la floración y su relación con la alternancia productiva.

#### **4. Metabolismo de los carbohidratos en el aguacate**

El almidón y los azúcares solubles son los carbohidratos de reservas predominantes para disponer de energía para el crecimiento (Dey y Dixon, 1985). Estudios previos sobre la producción de árboles frutales han mostrado que los carbohidratos de reservas están relacionados con la producción (Monselise y Goldschmidt, 1982).

Recientes estudios han demostrado que los azúcares solubles de siete carbonos (C7) son la mayor forma de carbohidratos de reserva en el aguacate 'Hass' (Liu *et al.*, 1999). Estos azúcares de siete carbonos son azúcares inusuales en la naturaleza y han sido encontrados sólo en unas pocas especies vegetales (Richtmyer, 1970). No existe una explicación clara del por qué el aguacate destina una proporción tan grande del carbono

fijado a este tipo de azúcares. Otros árboles frutales, tales como manzanos, perales y olivos, producen azúcares alcoholes de seis carbonos, como el sorbitol y el manitol, como productos mayoritarios de la fotosíntesis. El aguacate también produce un azúcar alcohol, el heptitol perseitol, un polihidroxi derivado del azúcar reducido de siete carbonos, manoheptulosa. Liu *et al.* (1999) señalan que estos dos azúcares de siete carbonos (manoheptulosa y perseitol) son los mayores componentes de los azúcares en todos los órganos del aguacate.

Grandes cantidades de azúcares C7, D-manoheptulosa y su forma polioliol reducida, perseitol, se han encontrado en hojas, brotes, tronco, y raíces. Los azúcares C7 se han encontrado incluso en igual o mayor concentración que el almidón (Liu *et al.*, 1999a), reconocido como el carbohidrato de reserva del aguacate (Olivera y Priestley, 1988; Scholefield *et al.*, 1985).

El fruto de aguacate se caracteriza por una alta tasa respiratoria durante su desarrollo y también durante la maduración en postcosecha (Blanke y Whiley, 1995; Bower y Cutting, 1988; Whiley *et al.*, 1992). Sin embargo, se sabe poco respecto de la naturaleza de los sustratos de carbono que soportan este proceso respiratorio. Variando las temperaturas de almacenaje y duración de éste, pueden resultar diferentes cambios en los carbohidratos almacenados y utilizados (Eaks, 1990; Luza *et al.*, 1990).

Las mayores tasas respiratorias en el fruto de aguacate se han observado durante los estadios tempranos del crecimiento del fruto (hasta 12 semanas después de anthesis), período que corresponde al de mayor división celular en el fruto, para luego disminuir a las menores tasas observadas, justo al tiempo de la maduración del fruto (Whiley *et al.*, 1992).

Liu *et al.* (1999b) señalan que la naturaleza de las formas de transporte de carbono en el aguacate es desconocida. Sin embargo, debido a la presencia de perseitol en cantidades significativas, es altamente probable que este azúcar de siete carbonos sirva como azúcar de transporte en el floema. Esta sería una estrategia fisiológica similar a la de otros árboles frutales, como manzanos, melocotonero y otras especies relacionadas, que transportan formas polioles de azúcares del tipo hexosas (C6). Los autores también señalan una disminución en la concentración de azúcares C7 en la piel y pulpa tras el almacenaje a baja temperatura y después de la madurez, sugiriendo que el fruto del aguacate tendría, además, un mecanismo enzimático para metabolizar los azúcares C7.

De acuerdo con ello, los azúcares C7 actuarían como formas de carbono traslocables, de reserva y como metabolitos respiratorios.

El fruto de aguacate no madura en el árbol (Bower y Cutting, 1988) y se ha planteado la posibilidad de que una reducción en los niveles de azúcares sería un prerrequisito para su maduración. Sólo cuando el fruto se separa del árbol y el abastecimiento desde las fuentes, como los brotes, se acaba, puede iniciarse el proceso de maduración. Los azúcares C7, D-manoheptulosa y perseitol, podrían, de esta forma, jugar un papel en el control de esta madurez controlada por azúcares. Dentro de este contexto, resulta intrigante que el azúcar D-manoheptulosa sea un potente inhibidor de las hexoquinasas y, por ello, de los procesos respiratorios glicolíticos (Board *et al.*, 1995; Leon y Sheen, 2003). En el aguacate, estos efectos de la manoheptulosa pueden ser necesarios para continuar la exportación de azúcares y la carga en el floema, para así sustentar el crecimiento de la fruta y su desarrollo. El metabolismo posterior de la manoheptulosa, en otro lugar del árbol, puede involucrar una ketoreductasa y la formación de perseitol. Tanto la manoheptulosa como el perseitol son productos de la asimilación del CO<sub>2</sub> en las hojas, y un estudio reciente sugiere que en este órgano la manoheptulosa se formaría como un producto fosforilado de la sedoheptulosa-1,7 bifosfato, vía condensación de la dihidroxiacetona fosfato y la eritrosa 4-fosfato (Liu *et al.*, 1999; 2002).

Bean *et al.* (1961) trabajando con <sup>14</sup>C determinaron que la sacarosa es el primer azúcar marcado durante la fotosíntesis. La manoheptulosa se forma al mismo tiempo que la sacarosa, pero a una tasa menor. La fructosa y el perseitol se marcaron mucho más lentamente que la sacarosa o manoheptulosa durante la fotosíntesis. Sin embargo, en subsecuentes períodos de oscuridad, continuó la acumulación en fructosa y perseitol, mientras que la sacarosa y manoheptulosa eran consumidas. Los autores concluyen que ambas, sacarosa y manoheptulosa, se forman directamente como productos del ciclo de reducción fotosintético del CO<sub>2</sub>. La fructosa y el perseitol podrían ser productos secundarios, formados a expensas de la sacarosa y manoheptulosa y por reacciones independientes de la fotosíntesis.

Los azúcares alcoholes, tales como el sorbitol y el manitol, se han visto implicados en la eliminación de sustancias reactivas al oxígeno (ROS) comúnmente formadas en respuesta a estreses severos y a la invasión de patógenos (Stoop *et al.*, 1996). De esta

forma, se ha considerado que el perseitol puede cumplir una función similar en el fruto de aguacate. Por otra parte, tratamientos con manoheptulosa a los frutos aumentan la actividad de la enzima HMGR (3-hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzima A reductasa) en los tejidos de la semilla entre un 19% y un 45% (Cowan, 2004). La HMGR es una enzima clave relacionada con la síntesis de compuestos isoprenoides, relacionados con estructuras tales como los carotenoides, clorofilas, plastoquinona (fotosíntesis), esteroides, fitoalexinas y varias sustancias reguladoras del desarrollo, que incluyen el ácido abscísico, brasinosteroides, giberelinas y citoquininas (Cowan *et al.*, 1997), por lo que contribuye a un control, tanto temporal como espacial, de los eventos durante la ontogenia de las plantas. Cowan (2004) señala que la actividad de la enzima HMGR en los tejidos de la semilla de aguacate, es sensible al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y sugiere que el perseitol y la manoheptulosa, que están relacionados por oxidación y reducción, eliminarían las ROS que podrían, de otra forma, inactivar la HMGR durante el curso normal del crecimiento del fruto o causar un daño oxidativo.

Análisis de la savia del floema extraída desde el tronco (carbohidratos de reserva movilizados) y de pecíolos de hojas (azúcares producidos fotosintéticamente) revelaron como azúcares mayores presentes en el aguacate la manoheptulosa (27%), el perseitol (15%) y un azúcar indeterminado (40%), mientras que la sacarosa, glucosa y fructosa fueron los azúcares minoritarios en cantidades de 5%, o menores, del total de azúcares solubles. Así, la manoheptulosa y el perseitol serían móviles en el árbol y disponibles para el crecimiento del fruto y su desarrollo. La concentración de perseitol permanece casi constante a través del crecimiento del fruto de aguacate, mientras que la manoheptulosa se eleva desde un 15% en el fruto inmaduro a un 53% del total de azúcares solubles en los frutos cercanos a la madurez (Cowan, 2004).

## 5. Metabolismo de los lípidos en el aguacate

Amthor (1984) y Cannell (1985) mencionan como un factor clave determinante de la producción de fruta al costo respiratorio del crecimiento y a la eficiencia estacional de la fotosíntesis del cultivo. Wolsteholme (1986, 1987) calculó que el fruto de aguacate, el cual acumula aceites, tiene un elevado requerimiento energético para el crecimiento (807,2 kJ 100 g<sup>-1</sup> para el cv. Fuerte con un 17% de contenido de aceite, comparado con 262,8 y 292,5 kJ 100 g<sup>-1</sup> para manzanas y cítricos, respectivamente).



La formación de ácidos grasos y ácidos orgánicos en aguacate requiere la incorporación de acetato, en forma de Acetil-CoA. La acetil-CoA es un grupo de alta energía, proveniente de la mayor parte de las rutas metabólicas que generan energía. De hecho, el piruvato, producto final de la glicólisis, es precursor de la acetil-CoA. La incorporación de las largas cadenas de ácidos grasos en glicéridos por diversas reacciones requiere de ATP y CoA. También se ha demostrado que en la producción de ácidos grasos en aguacate, el oxígeno es absolutamente indispensable. Los ácidos grasos estarían en forma de triglicéridos y fosfolípidos. Se ha reportado que la propiedad de síntesis de estos ácidos grasos se realizaría por una fracción particular con características de sedimentación similar a la mitocondrial. Estas partículas tendrían actividades enzimáticas a las asociadas a la mitocondria, tales como interconvertir los intermediarios del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA), y la habilidad de oxidar largas cadenas de ácidos grasos. Otra característica particular observada en la síntesis de ácidos grasos es que esta fracción particular, que forma glicéridos, puede atrapar rápidamente los ácidos grasos que se forman. Esta propiedad sería de importancia en facilitar la síntesis de ácidos grasos por remoción del producto de la reacción. En la formación de glicéridos, la larga cadena activada de ácidos grasos libera CoA, retornando a los ciclos metabólicos de formación de acetil-CoA, pero no se recupera el ATP (Mudd y Stumpf, 1961).

Existen numerosos reportes de la estimulación de la síntesis de ácidos grasos por citrato y malonato, ambos intermediarios del TCA. Se ha concluido que el efecto del citrato es por su capacidad de proveer  $\text{CO}_2$  necesario para la formación del malonil-CoA. Esta molécula (malonil-CoA) se forma por la carboxilación de un acetil-CoA, en donde el carboxilo procede de un ión bicarbonato. Esta es la primera reacción y le etapa limitante de la síntesis de ácidos grasos, y consume ATP. El citrato puede, además, bloquear la entrada del acetato al TCA, dejando de esta manera más acetato libre para la síntesis de ácidos grasos. El malonato también inhibe la actividad del ciclo del TCA, por lo que estimularía la formación de ácidos grasos, al inhibir las reacciones con consumo de oxígeno asociadas con el TAC (Mudd y Stumpf, 1961). Resulta interesante que el malonato y el citrato, productos normales del metabolismo del acetato en el aguacate, puedan afectar la síntesis de ácidos grasos en las formas descritas. En ausencia de un control hormonal, la síntesis de ácidos grasos puede ser controlada indirectamente por estos dos ácidos (Mudd y Stumpf, 1961).



## **Objetivos**

Frente a los antecedentes expuestos, el presente trabajo tiene como **objetivo general** relacionar, bajo diferentes situaciones de producción, algunos factores ecofisiológicos, tales como la radiación y la eficiencia fotosintética, con la influencia que ejerce el fruto sobre la floración y la brotación, y aportar de este modo, conocimientos sobre la alternancia de cosechas, y específicamente:

- Establecer la época durante la cual el fruto inhibe la floración de la temporada siguiente.
- Analizar la evolución del contenido en carbohidratos, fracciones nitrogenadas y algunos indicadores de estrés en los brotes y en el fruto y sus tejidos, durante el desarrollo del mismo.
- Determinar la influencia del fruto en desarrollo sobre la evolución de los carbohidratos, fracciones nitrogenadas, proteínas y algunos indicadores de estrés, como el ácido abscísico, prolina y fluorescencia clorofílica, y su relación con la floración y la brotación.
- Analizar el rayado de ramas con algunos de los parámetros ecofisiológicos de estrés evaluados.





## **II. Materiales y Métodos**



## II. Materiales y Métodos

---

### Material vegetal

En todos los experimentos de esta Tesis, fueron utilizados árboles de aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. 'Hass', adultos, plantados en 1995, injertados sobre patrones de raza mexicana (Topa-Topa), cultivados en un huerto comercial, localizado en Callosa d'En Sarriá, Alicante, España. Los árboles, plantados a una distancia de 6 x 8 m, fueron seleccionados por su uniformidad de producción, sanidad y vigor, estando bajo manejos agronómicos adecuados durante todo el periodo del experimento, incluyendo evaluaciones entomológicas, calendarios de riego y un programa de fertilización acorde a la edad del huerto.

Para el experimento del Capítulo 1 (Aspectos nutricionales y endógenos relacionados con el desarrollo del fruto), se realizaron muestreos periódicos de brotes y frutos de árboles escogidos al azar, 15 por cada fecha de muestreo señaladas en la Tabla 1. Cada fruto se separó en los diferentes tejidos que contiene (pulpa y piel, semilla, cubierta seminal o chalaza, embrión) para su posterior liofilización. En la Figura 1 se aprecia el tipo de fruto y brote que se muestreó. También se consideraron frutos partenocárpicos como material de comparación en este ensayo (Figura 2).

**Tabla 1.** Fechas de realización de los muestreos en el ensayo “Aspectos nutricionales y endógenos relacionados con el desarrollo del fruto” (Capítulo 1) y estado fenológico al que corresponde cada fecha.

| Fecha de muestreo | Estado fenológico             |
|-------------------|-------------------------------|
| Marzo 2005        | Madurez del fruto             |
| Mayo 2005         | Floración                     |
| Julio 2005        | Final primera caída de frutos |
| Septiembre 2005   | Final segunda caída de frutos |
| Octubre 2005      | Período de inducción          |
| Diciembre 2005    | Crecimiento del fruto         |
| Febrero 2006      | Madurez del fruto             |
| Marzo 2006        | Madurez del fruto             |



**Figura 1.** Izquierda: Fruto en crecimiento, con ausencia de brotación de la temporada y un rudimento del eje floral de la panícula, no adecuado para el muestreo. Derecha: Fruto en crecimiento con el brote producido en el momento de la floración, apto para los muestreos. En ambos casos se trata del cv. 'Hass'.



**Figura 2.** Superior: Fruto partenocárpico en crecimiento (también llamados paltín), mostrando la ausencia de semilla en su interior. Inferior: Racimo de frutos partenocárpicos (paltines) en un árbol de aguacate cv. 'Hass'.





Para el ensayo del Capítulo 2 (Determinación de la época durante la cual el fruto ejerce su influencia inhibidora de la floración), flores y frutos fueron eliminados en cuatro fechas (Tabla 2), con el objetivo de evaluar su afecto inhibidor sobre la siguiente floración. Se seleccionaron cuatro ramas homogéneas por tratamiento, de 6-10 cm de diámetro y con abundante floración (año “On”) (Figura 3). Como controles se utilizaron árboles en año “On” sin realizarles desfrute alguno durante todo el período experimental. En cada fecha de desfrute fueron tomadas muestras de todos los tratamientos. Una fecha adicional de muestreo fue considerada para determinaciones analíticas. La floración fue evaluada en la primera fecha de desfrute, en términos de porcentaje de floración (brotes florales con respecto al total de brotes) e intensidad de floración (número de flores por panícula) en 25 panículas por tratamiento que fueron seleccionadas al azar.

**Tabla 2.** Fechas de realización de los tratamientos de desfrute y muestreos. Estado fenológico correspondiente a cada fecha.

| Tratamiento | Fecha de desfrute | Estado fenológico             |
|-------------|-------------------|-------------------------------|
| T1          | Mayo              | Plena Floración               |
| T2          | Julio             | Final primera caída de frutos |
| T3          | Septiembre        | Final segunda caída de frutos |
| T4          | Octubre           | Período de inducción          |
| T5          | Enero             | Madurez del fruto             |



**Figura 3.** Izquierda: Panícula a la cual se le extrajo todas las flores en la fecha de desfrute T1. Derecha: Tipo de frutos eliminados en la fecha de desfrute T2.

Para el experimento del Capítulo 3 (Interrelaciones Floración-Fructificación-Floración en el aguacate) se establecieron tres niveles de floración. Para cada nivel de floración se hizo una categorización de la intensidad de floración, realizando un muestreo aleatorio de 15 brotes a los cuales se les contabilizó el número de flores por panícula: AF: Alta Floración (sobre 1000 flores/panícula), MF: Mediana Floración (50 a 500 flores/panícula) y BF: Baja Floración (0 a 50 flores/panícula). En la Figura 4 se pueden apreciar los tres grados de floración y el tipo de panícula que presentaban. Se realizaron muestreos periódicos de brotes para cada tratamiento (intensidades de floración), 15 por tratamiento de radiación, en las fechas señaladas en la Tabla 3, procediéndose a su liofilización, tal como se ha explicado para el Capítulo 1.



**Figura 4.** Superior: Árbol con floración categorizada como “Alta”, con un acercamiento al tipo de panícula que presenta. Medio: Árbol con floración categorizada como “Mediana”, y un acercamiento al tipo de panícula que presenta. Bajo: Árbol con floración categorizada como “Baja”, y un acercamiento al tipo de brote que presenta.

**Tabla 3.** Fechas de realización de los muestreos para el ensayo “Interrelaciones Floración–Fructificación–Floración en el Aguacate” y estado fenológico al que corresponde cada fecha.

| Fecha de Muestreo | Estado fenológico             |
|-------------------|-------------------------------|
| Abril 2005        | Floración                     |
| Julio 2005        | Final primera caída de frutos |
| Septiembre 2005   | Final segunda caída de frutos |
| Octubre 2005      | Período de inducción          |
| Febrero 2006      | Madurez del fruto             |
| Abril 2006        | Floración                     |

Las muestras procedentes de los tratamientos “alta” y “mediana” floración normalmente procedían de brotes con fruto. Para el caso del tratamiento “baja” floración, las muestras procedieron de brotes sin flores o frutos, debido a la ausencia de ellos durante el desarrollo del ensayo.

Para el experimento del Capítulo 4 (Efecto de diferentes niveles de radiación sobre la floración del aguacate), se procedió a caracterizar la PAR (radiación fotosintéticamente activa) fuera (periferia de la copa) y dentro de la copa de los árboles (Figura 5), en día soleados y nublados. Se tomaron muestras de brotes periódicamente, 15 por tratamiento de radiación, en las fechas señaladas en la Tabla 4. Las muestras correspondientes al interior de la copa, no presentaron fruto en ninguna oportunidad. Por el contrario, las muestras recogidas de la periferia del árbol normalmente fueron colectadas con la presencia de fruto. En la Figura 5 se puede apreciar las dos condiciones de radiación que se consideraron como las más extremas y representativas: Sol, con valores PAR en días soleados dentro del rango 1200 a 1500, y sombra (alrededor de 1,5m en el interior de la copa), con un rango de radiación PAR de 15 a 50.

**Tabla 4.** Fechas de realización de los muestreos en el experimento “Efecto de diferentes niveles de radiación sobre la floración del aguacate” y estado fenológico al que corresponde cada fecha.

| Fecha de Muestreo | Estado fenológico             |
|-------------------|-------------------------------|
| Enero 2005        | Madurez del fruto             |
| Abril 2005        | Floración                     |
| Julio 2005        | Final primera caída de frutos |
| Septiembre 2005   | Final segunda caída de frutos |
| Octubre 2005      | Período de inducción          |
| Abril 2006        | Floración                     |

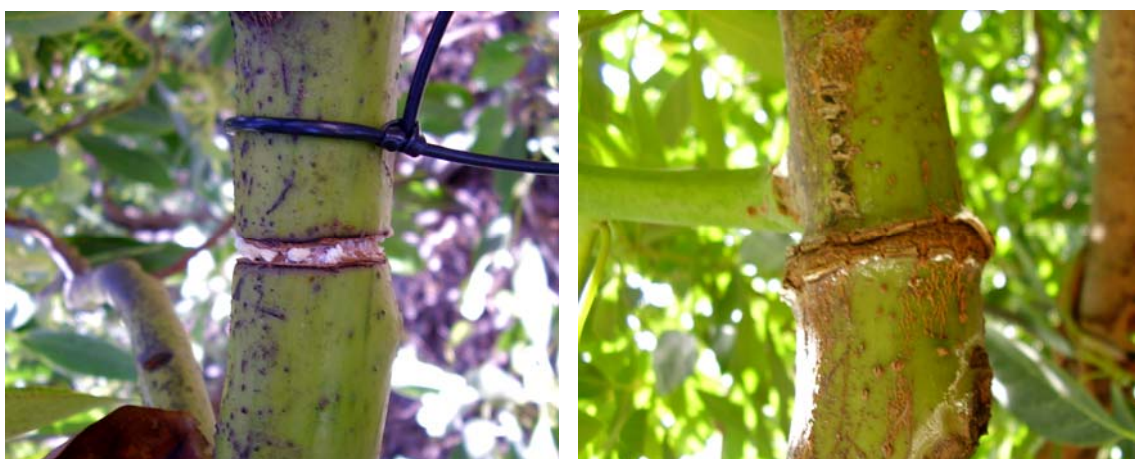


**Figura 5.** Superior: área bajo la copa de los árboles desde donde se obtuvo el material correspondiente a los “Brotos Sombra”. Inferior: Área periférica de la copa, con incidencia directa de la radiación solar, a partir de la cual se obtuvieron los “Brotos Sol”.

Para el ensayo del Capítulo 5 (Estudio de factores ecofisiológicos relacionados con el estrés y la floración en aguacate) se llevaron a cabo varios ensayos. En el primero, se realizaron tratamientos de rayado y anillado (2mm) a 5 ramas de similar tamaño y vigor por tratamiento, considerando 5 ramas controles. En las Figuras 6 y 7 se puede apreciar los tratamientos de anillado y rayado realizados y su evolución. Estos tratamientos comparativos fueron realizados el día 18 de abril del 2005, considerándose como un tratamiento para el aumento del cuajado. Un segundo ensayo consistió en variar la fecha de rayado, con dos alternativas de fechas (4 de noviembre y 10 de diciembre) y un control sin rayar. Esta fecha de rayado en otoño es un tratamiento habitualmente utilizado entre los productores de aguacate para estimular la inducción floral y, con ello, la floración de la temporada siguiente después de años con alta producción.



**Figura 6.** Tratamiento de rayado realizado a ramas de aguacate. Izquierda: fotografía realizada inmediatamente después del tratamiento. Derecha: Fotografía realizada un mes después de realizado el tratamiento.



**Figura 7.** Tratamiento de anillado (2mm) realizado a ramas de aguacate. Izquierda: fotografía realizada 1 mes después de realizado el tratamiento. Derecha: Fotografía realizada cuatro meses después de realizado el tratamiento.

También dentro de los ensayos considerados en este capítulo, se consideraron situaciones de brotes con y sin fruto, los dos niveles de radiación descritos en el Capítulo 1, los tres niveles de floración descritos en el ensayo del Capítulo 2, y los tratamientos de desfrute que se describirán en el Capítulo 5. En todas estas situaciones se analizaron parámetros relacionados con el estrés que puede sufrir la planta bajo tales situaciones, tales como: fluorescencia clorofílica y eficiencia fotosintética del PSII, verdor de las hojas mediante mediciones SPAD, grado de floración y brotación, y diámetro del fruto.

Todo el material muestreado en cada uno de los experimentos anteriormente detallados fue extraído de los árboles e inmediatamente congelado en nitrógeno líquido para su posterior traslado al laboratorio, donde se almacenó a  $-28^{\circ}\text{C}$ . Antes de realizar los análisis correspondientes a cada experimento, se separaron los diferentes órganos, tanto en brotes como en frutos, se liofilizaron y se molieron hasta obtener un polvo fino homogéneo. Cualquier alteración del proceso descrito, está expuesta en su desarrollo o en el capítulo correspondiente, como una aclaración.

### **Análisis de carbohidratos**

Para el análisis de carbohidratos, las muestras tomadas fueron inmediatamente congeladas en  $\text{N}_2$  líquido, liofilizadas y almacenadas como polvo a  $-28^{\circ}\text{C}$ . Al tejido seco y molido (100 mg) se le añadieron 4 ml de etanol al 80% y 100  $\mu\text{L}$  de D-manitol ( $30 \text{ mg ml}^{-1}$ ) (Sigma-Aldrich Química, Madrid, España) como estándar interno, y se incubó en un baño a  $80^{\circ}\text{C}$  durante 30 min para extraer los azúcares solubles. El extracto fue centrifugado durante 10 min a  $15.000 \times g$  usando una centrífuga P-Selecta Meditronic® (J.P.Selecta S.A., Barcelona, España). Se eliminó el sobrenadante y se repitió la extracción dos veces más, tal como se indica más arriba. Los sobrenadantes, combinados, fueron llevados a gota en un concentrador Speed Vac (SAVANT®, Holbrook, N.Y., EEUU). Las muestras secas fueron resuspendidas en 1 ml de agua mQ y desionizadas usando columnas de resinas secuenciales aniónicas y catiónicas (AG1-X8/formate y AG50W-X8/H+, BIO-RAD®, Hercules, California, EEUU). Se utilizaron para ello jeringas de 5 ml que fueron llenadas con 1ml de resina. La resina catiónica fue lavada 5 veces con agua bidestilada hasta equilibrar el pH a 7,5. La resina aniónica, equilibrada en NaOH 1M, fue lavada 8 veces hasta equilibrar el pH a 9,0 para añadirle posteriormente 2ml de  $\text{CH}_2\text{O}_2$  al 80%. Se procedió a lavar con agua bidestilada hasta equilibrar el  $\text{pH} \geq 4,8$ . El extracto (1 ml) fue cargado en la jeringa con resina aniónica, agregando 0,1 ml de agua destilada para lavar el tubo. La solución fue diluida desde la columna aniónica con 0,4 ml extras de agua bidestilada. La solución recogida por la columna catiónica fue lavada con 0,4 ml de agua bidestilada y filtrada, finalmente, a través de un filtro de membrana de  $0,45 \mu\text{m}$  (Scharlau®, Barcelona, España). La solución total recogida se tomó para llevar a sequedad nuevamente. Los azúcares fueron entonces redissueltos en 200  $\mu\text{L}$  de agua bidestilada, y analizados con un HPLC Spectra

System® (Spectra, San José, California, EEUU) conectado a un refractómetro diferencial (Spectra R150), con bomba de vacío (Spectra P2000) y un software para el procesamiento de datos (ChromQuest® Software Data System (1998), San José, California, EEUU).

Alícuotas del extracto filtrado de 20 µl fueron inyectadas a una columna Sugar-pak (Waters, Milford, Massachussets, EEUU) (6,5 x 300 mm) unida a un módulo de precolumna Waters Guard-Pak (EEUU). Se utilizó agua como solvente a un flujo de 0.5 ml por minuto y un tiempo de duración de 20 min. Los azúcares separados fueron detectados y cuantificados por comparación con los estándares conocidos. La recuperación de azúcares se evaluó por comparación con el del estándar interno D-manitol. Los resultados fueron expresados en mg de carbohidratos g<sup>-1</sup> de peso seco. En todos los ensayos realizados no fue posible separar cromatográficamente el azúcar sedoheptulosa de la fructosa, por esta razón ambos azúcares serán referidos, en adelante, en conjunto. Por otra parte, en algunos casos, la gluc-6-P coincidió cromatográficamente con la rafinosa, pero ésta se excluyó de los resultados y discusión debido a que sus concentraciones son muy pequeñas, en comparación con la gluc-6-P, o inexistentes.

El contenido de almidón fue determinado a partir del residuo que se obtuvo después de la extracción de los azúcares solubles. Éste fue disuelto en 6 ml de agua y gelatinizado en autoclave a 135°C durante 2 horas, y se centrifugó durante 10 min a 27.000 x g. Se extrajeron 4 ml de sobrenadante y se incubaron con agitación, durante 2 h, a 55°C, con 0,2 ml de fucosa (60 mg ml<sup>-1</sup>), como estándar interno, 0,5 ml de acetato de sodio pH 4.5 y 1 ml de la enzima amiloglucosidasa (1218 unidades; procedentes de *Rhizopus mold*, Sigma-Aldrich Chemie GmbH., Steinheim, Germany). Las muestras fueron centrifugadas durante 30 min a 27.000 x g y el sobrenadante fue llevado a sequedad y redisolto en 1 ml de agua. La glucosa liberada fue determinada por HPLC usando una columna APS-2 Hypersil 250 x 4,6 mm unida a una precolumna Ionguard (20 x 0,65 mm) (Thermo Hypersil GMBH, Kleinostheim, Germany). Se utilizó como solvente una solución de acetonitrilo y agua [60:40 (v/v)] a un flujo de 1ml min<sup>-1</sup> y un tiempo de 8 min. Los azúcares separados (fucosa y glucosa) fueron detectados y cuantificados por comparación con los azúcares estándares correspondientes.



## Análisis de clorofilas y mediciones SPAD

Con el fin de relacionar las unidades SPAD con el contenido foliar en clorofilas y elementos minerales, se tomaron hojas con diferente rango de coloración verde, seleccionadas de todas las zonas de la planta, sin importar la edad de la rama; de ellas se determinaron las unidades SPAD tomando el promedio de 3 medidas por brote y 5 repeticiones. Todas las mediciones se realizaron con luz natural. Inmediatamente después se liofilizaron y se tomaron 100 mg PS para la medición del contenido en clorofilas (Chl). Las Chls se extrajeron agregando a la muestra 3 ml de N,N-dimetilformamida (DMF) e incubando durante 48 h en oscuridad a 4°C y con agitación. Luego, la muestra se centrifugó a 4000 x g y se midió la absorbancia del sobrenadante a 647 y 664 nm mediante un espectrofotómetro. La concentración de Chl se determinó a partir de la absorbancia, aplicando las siguientes fórmulas (Moran, 1982):

$$Ca = 12,64A_{664} - 2,99A_{647} \quad (\mu\text{g mL}^{-1})$$

$$Cb = -5,6A_{664} + 23,26A_{647} \quad (\mu\text{g mL}^{-1})$$

$$C_T = 7,04A_{664} + 20,27A_{647} \quad (\mu\text{g mL}^{-1})$$

Los elementos minerales se analizaron como se describe a continuación:

*Nitrógeno total:* Se utilizaron los métodos ya descritos para las diferentes fracciones nitrogenadas, realizando la suma de ellas para obtener el contenido en nitrógeno total.

*Fósforo, potasio, calcio:* La digestión de las muestras se realizó por vía húmeda, utilizándose una mezcla sulfo-nitro-perclórica. Después de lavar varias veces el matraz Kjeldahl, se aforó a 50 ml. El fósforo se determinó colorimétricamente por el método de Fiske y Subbarow (1925). Se tomaron 5 ml del aforado, se añadieron 1,0 ml de molibdato de amonio, al 2,5%, y 1,0 ml de agente reductor, y se aforó a 10 ml con agua destilada. Se preparó una curva estándar conteniendo entre 0 y 50 microgramos de fósforo por matraz y se midió la densidad óptica en un espectrofotómetro a 680 nm.

Para el análisis del *potasio*, se tomaron 2 ml del aforado, volviendo a aforarle a 10 ml. Se preparó una curva estándar conteniendo entre 0 y 100 microgramos de potasio por matraz. El contenido de potasio se determinó en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer.

Para el análisis del *calcio, Magnesio, hierro, cobre, zinc, manganeso y boro*, se tomaron 0,5 ml del aforado, se agregó 1,0 ml de solución de óxido de lantano (100 ppm) para evitar interferencias, aforándose posteriormente a 10 ml. Se preparó una curva estándar conteniendo entre 0 y 100 microgramos de cada catión por matraz y se leyó el contenido del mismo en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer.

Mediante curvas de regresión exponencial se determinaron los Coeficientes  $R^2$  entre los contenidos en minerales y las mediciones SPAD.

### **Análisis de proteínas totales solubles y prolina**

Las Proteínas Totales Solubles (PTS) fueron medidas según el protocolo descrito por Bradford (1976), con albúmina de bovino (BSA) como estándar. La absorbancia se leyó espectrofotométricamente a 750 nm y los resultados se expresaron en  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  de PS. La prolina, se extrajo de 100 mg de material en polvo liofilizado con 1 ml de tampón fosfato ( $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-KOH}$ ) 100 mM (pH 7,5) a 4°C. La solución fue centrifugada a 15.000 x g durante 15 min a 4°C y el sobrenadante se utilizó para el análisis. Doscientos  $\mu\text{l}$  del sobrenadante se mezclaron con 800  $\mu\text{l}$  de una solución de ninhidrina al 1% (p/v) en una solución de ácido acético al 60% (Magné y Larher, 1992). La mezcla se calentó a 100°C durante 20 min y, posteriormente, se enfrió sobre hielo durante 5 min. A la muestra se le agregaron 2 ml de tolueno y se agitó durante 15 s. Posteriormente se incubó 4 h en oscuridad para luego medir la absorbancia de la fase superior a una longitud de onda de 520 nm. El contenido de prolina se calculó a partir de una curva de concentraciones con patrones puros; los resultados se expresaron en  $\mu\text{g Pro g}^{-1}$  PS.

### **Extracción y determinación del ácido abscísico**

La cuantificación de ABA se realizó mediante un test ELISA siguiendo el protocolo de Zacarías *et al.* (1995) y Lafuente *et al.* (1997). Todo el procedimiento se realizó en oscuridad. El ABA se extrajo a partir de 100 mg PS de tejido en polvo liofilizado, con 5 ml de acetona al 80%, ácido cítrico ( $0,5 \text{ g L}^{-1}$ ) e hidroxitolueno butirato (BHT;  $100 \text{ ml L}^{-1}$ ). La homogenización se realizó con un Polytron (9500 rpm) (Ultra-turrax® T25, Ika®-Werke, Germany) durante 1 min. Las muestras se dejaron en maceración durante toda la noche a 4°C. Al día siguiente, se centrifugaron durante 5

min a  $10,600 \times g$  a  $4^{\circ}\text{C}$  y se tomaron  $20 \mu\text{l}$  del sobrenadante para el test ELISA, siguiendo el protocolo de Walker-Simmons (1987). Cuatro réplicas por muestra se incubaron a  $4^{\circ}\text{C}$  toda la noche con  $500 \mu\text{l}$  de anticuerpos monoclonales (MAb) y  $480 \mu\text{l}$  de un tampón salino Tris (TBS, pH 7,8) (1 tableta y  $0,2 \text{ g}$  de  $\text{Cl}_2\text{Mg} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  disueltos en  $15 \text{ ml}$  de agua mQ). Los pocillos de la placa ELISA se incubaron a  $4^{\circ}\text{C}$  toda la noche con  $200 \mu\text{l}$  de un conjugado de albúmina bovina con ABA-4', preparado como lo describe Weiler (1979). Las primeras filas y columnas de la placa no se utilizaron. Los pocillos se lavaron 3 veces con  $200 \mu\text{l}$  de TBS-tween (1 L TBS con  $0,5 \text{ ml}$  de Tween-20 y  $0,2 \text{ g}$  de BSA). Alícuotas de  $200 \mu\text{l}$  de muestra incubada con MAb se colocaron en los pocillos y las placas se incubaron 2 h a temperatura ambiente. Cada pocillo se lavó 3 veces con  $200 \mu\text{l}$  de TBS-tween y se agregaron  $200 \mu\text{l}$  de una solución alcalina de conjugado de ratón ( $20 \text{ ml}$  de TBS conteniendo  $20 \mu\text{l}$  de IgG). Las placas se incubaron 2 h a temperatura ambiente. Las celdas se lavaron 3 veces con TBS-tween y se agregaron  $200 \mu\text{l}$  de una solución de nitrofenil fosfato ( $20 \text{ ml}$   $0,05 \text{ M}$  de  $\text{NaHCO}_3$  con  $20 \text{ mg}$  de sal disódica hexahidratada de 4-nitrofenil fosfato) a cada pocillo. Las placas se incubaron durante, aproximadamente, 30 min en estufa de aire forzado a  $35^{\circ}\text{C}$ , hasta que la absorbancia de la muestra control (sin ABA) medida a  $405 \text{ nm}$  alcanzara, aproximadamente, 1,0. En cada placa, además de las muestras, se incubaron estándares de concentraciones conocidas de ABA (en un rango de  $15$  a  $250 \text{ pg } 100 \mu\text{l}^{-1}$  TBS) para realizar las curvas de concentración y calcular las ecuaciones de regresión. La cantidad de ABA en cada muestra se determinó según la ecuación de regresión calculada para cada placa. El estándar de (+)-ABA, TBS, BSA, IgG de ratón, 4'-nitrofenil fosfato se adquirieron en Sigma (Barcelona, España). El MAb se obtuvo de Idetek Inc. (Idetek, San. Bruno, CA, USA). El BHT, ácido cítrico, acetona, Tween-20 y  $\text{NaHCO}_3$  se adquirieron de Scharlau (Barcelona, España). Las placas (F96 Maxisorp) fueron provistas por NUNCTM (Roskilde, Dinamarca). Los resultados se expresan como  $\mu\text{moles ABA g}^{-1} \text{ PS}$ .

### **Determinación de la eficiencia cuántica del PSII**

La eficiencia cuántica del PSII se determinó mediante el estudio de la emisión de fluorescencia de la Chl a. Para asegurar la misma exposición a la luz, los brotes fueron seleccionados de la cara sureste y externa de la copa, a una altura de, aproximadamente,

1,3 m. Las mediciones fueron realizadas antes del medio día, con un sistema de pulsos de amplitud modulada (Junior-PAM, Walz, Gademann Instrument, Würzburg, Germany). Las evaluaciones se realizaron en las mismas fechas de toma de muestras. Antes de las medidas, las hojas se adaptaron durante 30 min a la oscuridad, para así obtener la eficiencia cuántica máxima del PSII ( $F_v/F_m$ ; donde  $F_v$  y  $F_m$  son la fluorescencia variable y máxima, respectivamente). La fluorescencia clorofílica mínima ( $F_o$ ) se determinó aplicando un pulso modulado de luz muy débil ( $<0,1 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), y la  $F_m$ , correspondiente a todos los centros del PSII cerrados, fue inducida mediante un pulso saturante de luz actínica ( $10800 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). La  $F_v$  se calculó a partir de la diferencia entre  $F_m$  y  $F_o$ . La eficiencia fotosintética del PSII en las hojas adaptadas a la luz ( $\Phi_{\text{PSII}}$ ) se calculó mediante la fórmula:  $\Phi_{\text{PSII}} = (F'_m - F_s)/F'_m$ , siendo la  $F'_m$  y  $F_s$  la fluorescencia máxima y constante de las hojas aclimatadas a la luz, respectivamente (Genty *et al.*, 1989). La  $F_s$  se determinó aplicando un pulso no saturante de luz actínica ( $270 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y la  $F'_m$  mediante un pulso de 1 s de luz saturante.

### **Nitrógeno proteico y nitrógeno amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ )**

Para la extracción de las fracciones de nitrógeno proteico y nitrógeno amoniacal, se utilizaron 0,5 g de muestra liofilizada a los que se añadieron 10 ml de ácido tricloroacético (TCA), frío, al 5%, para precipitar la fracción proteica. La suspensión se agitó durante 15 minutos, añadiendo, posteriormente, otros 30 ml de TCA 5%, manteniéndola en frío durante 15 minutos, al cabo de los cuales se filtró en frío con papel Watmann. La solución filtrada se almacenó a 4°C hasta la determinación de la fracción amoniacal soluble que se analizó con un FIAstar 5000 Analyzer. El residuo retenido en el filtro, junto con éste, se utilizó para la determinación de la fracción proteica. Al conjunto del residuo y el papel Watmann se le añadieron 3 g de una mezcla compuesta por  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CuSO}_4$  y Se metal (10:1:0,1), 10 ml de ácido sulfúrico 96% y 10 ml de peróxido de hidrógeno. Posteriormente se digirió la muestra a 450°C durante 30 minutos, agregando al finalizar la digestión 50 ml de agua destilada. Esta solución se utilizó para la determinación de la fracción proteica utilizando un destilador Foss Kjelttec 2200. El destilado finalmente se valoró con ácido clorhídrico 0,1 N.

### **Nitratos y nitritos.**

Para la extracción de estas formas nitrogenadas, se añadió 0,5 g de material liofilizado a 50 ml de agua Mili-Q, agitando durante 30 minutos. Posteriormente, se filtró con papel Watmann y se determinó la concentración de nitritos y nitratos mediante un FIAstar 5000 Analyzer.

### **Análisis estadístico**

En todos los casos se diseñaron experimentos al azar, utilizando el árbol como unidad de estudio y un árbol por repetición. Los resultados fueron sometidos al análisis de la varianza, y las medias fueron comparadas mediante el Test de Duncan, utilizando el programa estadístico StatGraphyCS® 2001. Los valores en porcentaje fueron transformados mediante la función  $\arcsen \sqrt{p}$ .





### **III. Resultados**





## CAPITULO 1



***Aspectos Nutricionales y Endógenos  
Relacionados con el Desarrollo del Fruto.  
Relación con la Intensidad de Floración***



## **CAPITULO 1**

### **Aspectos Nutricionales y Endógenos Relacionados con el Desarrollo del Fruto. Relación con la Intensidad de Floración**

#### ***1.1. Azúcares solubles***

La evolución de la concentración de azúcares solubles en hojas, brotes y fruto del aguacate cv. 'Hass' en las condiciones de nuestro experimento, se presenta en las figuras 1.1 a la 1.5.

La concentración de gluc-6-P en hojas, brotes y semillas presentó un incremento que comenzó en la floración para finalizar con un descenso durante la segunda brotación vegetativa. Finalizada esta brotación, las hojas incrementaron su concentración hasta alcanzar los valores más elevados de todo el período de estudio (69,58 mg g<sup>-1</sup> PS), al que siguió un ligero descenso durante el período de maduración del fruto. Los brotes también aumentaron ligeramente su concentración de gluc-6-P tras la segunda brotación, para permanecer prácticamente constante hasta la maduración del fruto (Figura 1.1). Pero la concentración en la semilla (146,15 mg g<sup>-1</sup> PS) disminuyó progresivamente hasta alcanzar los valores más bajos en el momento de la maduración del fruto (53,5 mg g<sup>-1</sup> PS).

El pedúnculo del fruto presentó una concentración prácticamente constante y muy elevada ( $\approx 80$  mg g<sup>-1</sup> PS) de gluc-6-P desde el momento del cuajado hasta la segunda brotación, momento a partir del cual disminuyó hasta alcanzar la menor concentración de todo el período de estudio (32,95 mg g<sup>-1</sup> PS), justo durante la maduración del fruto. Una vez que el fruto finalizó el período de maduración (dic-ene), la concentración de gluc-6-P volvió a incrementarse en el pedúnculo de los frutos que aún permanecieron en el árbol, al que siguió un descenso definitivo (Figura 1.1).

Un comportamiento similar se observó en la pulpa+piel, aunque de mucha menor magnitud. En estos tejidos, la mayor concentración de este azúcar también se alcanzó en pleno período estival, con concentraciones cercanas a 20 mg g<sup>-1</sup> PS, y la menor concentración durante la maduración del fruto, con tan sólo 5,14 mg g<sup>-1</sup> PS.

La cubierta seminal también presentó valores muy bajos y constantes hasta el final del segundo crecimiento vegetativo, momento en el cual presentó un ligero incremento

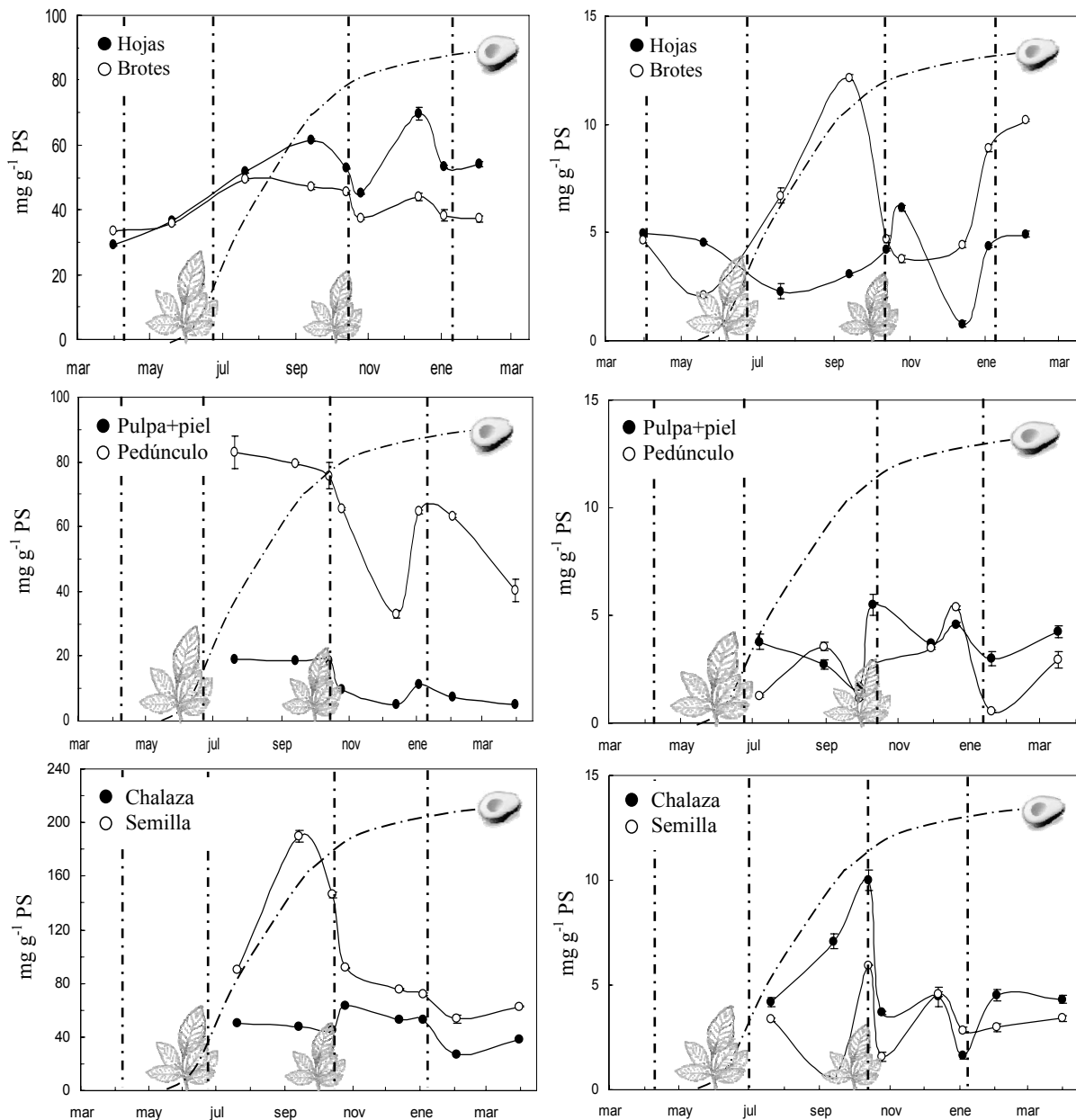
(63,64 mg g<sup>-1</sup> PS), seguido de un descenso progresivo hasta la maduración del fruto. Su evolución en esta última fase fue paralela a la de la semilla (Figura 1.1).

La sacarosa presentó una concentración muy baja en comparación con la gluc-6-P en todos los tejidos estudiados (Figura 1.1). En las hojas, presentó valores estables durante prácticamente todo el período, con excepción de un incremento a finales de la segunda brotación vegetativa, que alcanzó el valor más alto (6,13 mg g<sup>-1</sup> PS), y una posterior disminución hasta alcanzar los valores más bajos de todo el período de estudio, durante la maduración del fruto (0,78 mg g<sup>-1</sup> PS), que se recuperó hasta alcanzar los valores iniciales.

En los brotes, la concentración de sacarosa fue significativamente superior a la observada en las hojas. En éstos, el desarrollo de la floración produjo un descenso de la concentración de sacarosa, hasta alcanzar los valores más bajos de todo el período de estudio (2,08 mg g<sup>-1</sup> PS); con el inicio de la primera brotación vegetativa, su concentración se recuperó, iniciándose a partir de ese momento un incremento significativo, que culminó al comienzo de la segunda brotación vegetativa con la mayor concentración de todo el período de estudio (12,16 mg g<sup>-1</sup> PS). El desarrollo de esta brotación produjo un descenso importante de la concentración de sacarosa, que volvió a recuperarse durante la maduración del fruto (Figura 1.1).

En los tejidos pulpa+piel y pedúnculo del fruto la concentración de sacarosa fue baja y apenas experimentó cambios importantes (Figura 1.1). Finalmente, en la chalaza y en la semilla, la evolución de la concentración de sacarosa presentó un comportamiento paralelo, superior en la chalaza, con un incremento durante la segunda brotación, alcanzando la mayor concentración en ambos tejidos (10,0 y 5,94 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente), seguida de una brusca disminución (Figura 1.1).

Capítulo 1. Aspectos nutricionales y endógenos relacionados con el desarrollo del fruto.  
Relación con la Intensidad de Floración.



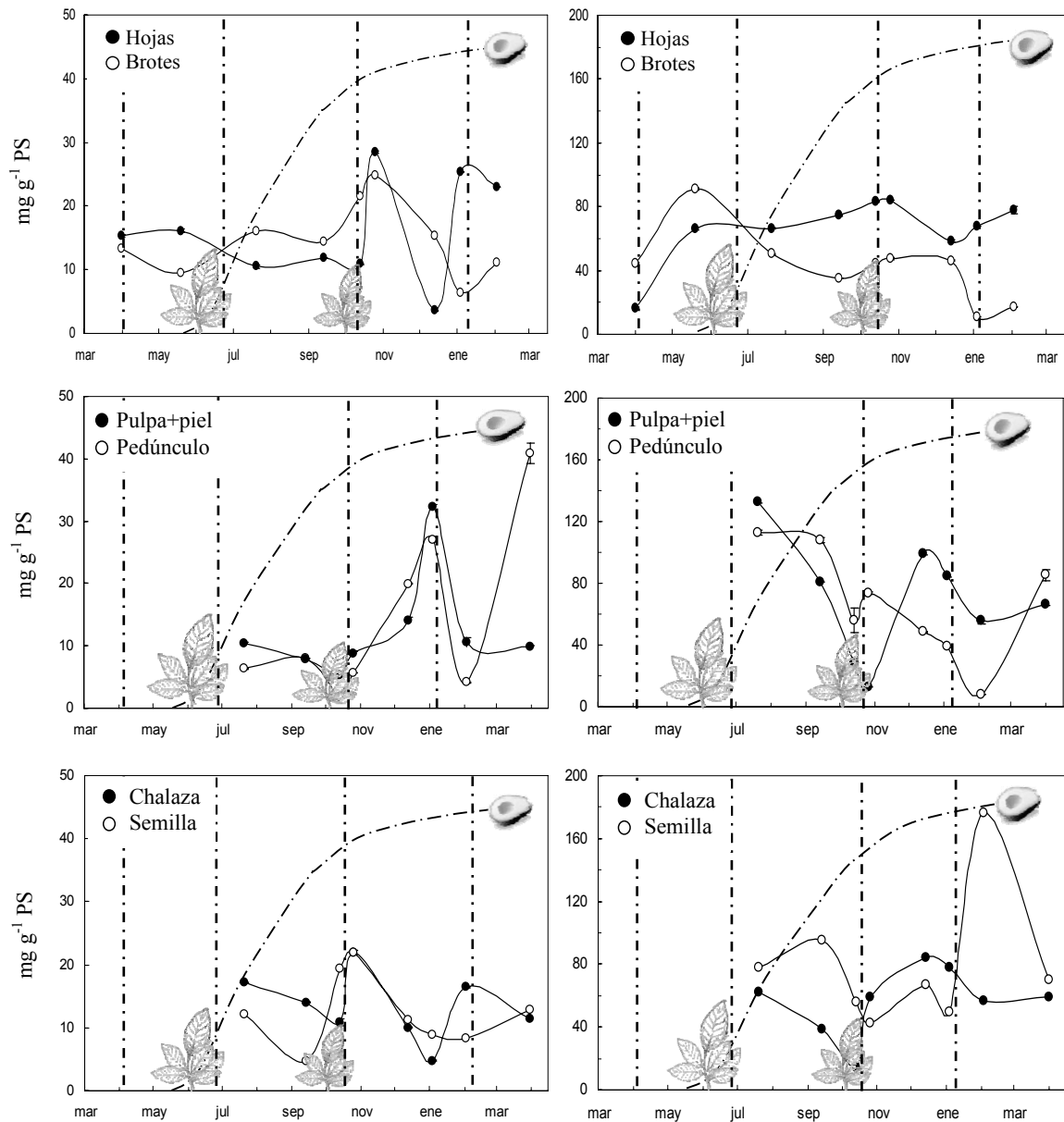
**Figura 1.1.** Evolución de la concentración de guic-o-r (izquierda) y sacarosa en las hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo y chalaza y semilla del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 repeticiones. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo.

La concentración de glucosa de las hojas y los brotes (Figura 1.2), fue prácticamente constante hasta el final de la segunda brotación, cuando se produjo un incremento significativo en ambos órganos (28,46 y 24,75 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente), seguido de un fuerte y prolongado descenso hasta el período de maduración del fruto, momento en que alcanzó los valores más bajos de todo el período de estudio (3,62 y 6,33 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente); su recuperación fue más rápida en las primeras que en los segundos. En la pulpa+piel, su concentración se mantuvo estable hasta el período en el que inició la maduración el fruto, momento en que se incrementó fuertemente hasta alcanzar su máximo (32,28 mg g<sup>-1</sup> PS). El pedúnculo del fruto siguió un comportamiento paralelo, con un valor máximo (40,93 mg g<sup>-1</sup> PS) también en la madurez del fruto (Figura 1.2). Las concentraciones menores de glucosa en ambos tejidos (pulpa+piel y pedúnculo del fruto) se observaron durante la segunda brotación vegetativa. En la semilla y la chalaza, resultó destacable un marcado incremento durante la segunda brotación vegetativa, seguido por un fuerte descenso desde el final de esta brotación hasta la madurez del fruto (enero), alcanzando en la chalaza la mínima concentración de todo el período de estudio (4,79 mg g<sup>-1</sup> PS). La semilla presentó su concentración mínima de glucosa al comienzo de la segunda brotación (Figura 1.2).

Para el caso de la manoheptulosa (Figura 1.2), las hojas y los brotes mostraron un incremento inicial a partir de la floración, para estabilizarse durante el resto del período de estudio. Durante el período de rápido crecimiento del fruto, la concentración de manoheptulosa en las hojas tendió a aumentar ligeramente, y en los brotes, a disminuir hasta alcanzar los valores mínimos (11,21 mg g<sup>-1</sup> PS). En la pulpa+piel y en el pedúnculo del fruto, sus máximos valores de la concentración de glucosa se observaron finalizada la segunda brotación (133,08 y 112,66 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente), Durante la fase de crecimiento del fruto, la manoheptulosa en la pulpa+piel, al igual que la glucosa, descendió hasta los valores mínimos de todo el período de estudio (13,16 mg g<sup>-1</sup> PS). El pedúnculo del fruto mantuvo una tendencia decreciente desde el final de la primera brotación hasta completada la madurez del fruto. Al finalizar la segunda brotación, sin embargo, la concentración de manoheptulosa se incrementó en la pulpa+piel, logrando recuperar, en parte, durante el período de maduración del fruto, los niveles iniciales (Figura 1.2). Al final de esta etapa se produjo un nuevo descenso de su concentración. Un moderado descenso de la concentración de manoheptulosa se

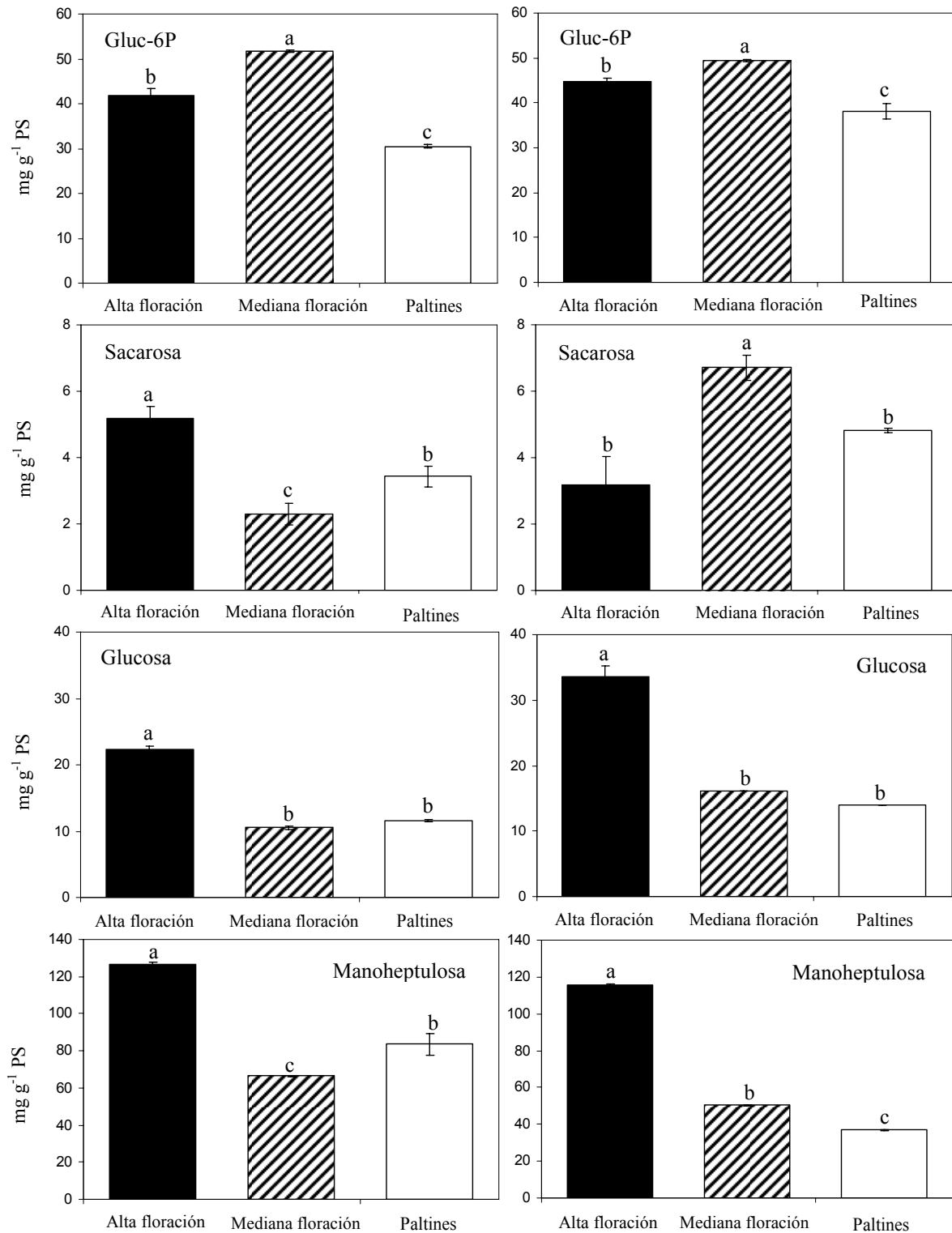
observó en la semilla y la chalaza durante el crecimiento del fruto. La chalaza mostró, por su parte, un fuerte incremento a partir de la segunda brotación que finalizó al completarse el período de la maduración del fruto (Figura 1.2). La semilla también mostró este incremento a partir de la segunda brotación, pero completado el período de maduración del fruto experimentó un fuerte incremento, llegando a su valor máximo ( $176,66 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ). La permanencia del fruto en el árbol dio paso a que la semilla disminuyera su concentración de manoheptulosa hasta valores semejantes a los detectados en el período estival (Figura 1.2).

El contenido de azúcares solubles en dos niveles de floración (AF y MF) y en ausencia de semilla en el fruto se muestra en la Figura 1.3. Los árboles de AF mostraron los mayores niveles foliares de sacarosa, glucosa y manoheptulosa. La única excepción fue la gluc-6-P, cuya concentración fue mayor en los árboles de MF. El fruto partenocárpico (paltines) presentó menores contenidos foliares de gluc-6-P que el fruto con semilla, ya sea en AF o en MF (Figura 1.3), e igual contenido de glucosa que para MF y para el resto de los azúcares (sacarosa y manoheptulosa), la partenocarpia indujo valores superiores a los obtenidos en las hojas de árboles con MF y que poseían frutos con semilla. En los tres últimos azúcares, las mayores concentraciones foliares se presentaron para la AF (Figura 1.3). En los brotes, se pudo apreciar una escasa diferencia en la concentración de gluc-6-P imputable al nivel de floración, siendo menor, en general, en los brotes con frutos partenocárpicos (Figura 1.3). La sacarosa presentó diferencias más notorias entre ambos niveles de floración, con concentraciones menores cuanto mayor era la floración (Figura 1.3). Los brotes con frutos partenocárpicos presentaron una concentración de sacarosa intermedia entre ambos niveles de floración (Figura 1.3). La glucosa y manoheptulosa presentaron concentraciones mayores en los brotes de los árboles con mayor intensidad de floración, siendo similar los valores para la MF y para el caso de la presencia de frutos partenocárpicos (Figura 1.3).



**Figura 1.2.** Evolución de la concentración de glucosa (izquierda) y mannoheptulosa en hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo y chalaza y semilla del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 repeticiones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo.





**Figura 1.3.** Influencia de la intensidad de floración y de la ausencia de semilla (frutos partenocárpico, paltines) sobre la concentración de gluc-6-P, sacarosa, glucosa y manoheptulosa (de arriba a abajo) en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Valores correspondientes al inicio del desarrollo del fruto (julio de 2005). Cada valor es la media de 4 repeticiones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES.

La evolución de la concentración de sedoheptulosa (que incluyó a la fructosa) en los diferentes órganos analizados fue prácticamente idéntica a las observada para la glucosa (Figura 1.4).

El perseitol, como azúcar de transporte, presentó en los brotes concentraciones fluctuantes con incrementos previos a cada brotación, alcanzando un máximo en el período inicial de cada una de ellas (51,65 y 57,19 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente) (Figura 1.4). Tras la segunda brotación, y durante la maduración del fruto, la concentración de perseitol alcanzó los valores mínimos de todo el período de evaluación, pero alcanzada ésta, se incrementó hasta los valores más elevados del mismo (75,95 mg g<sup>-1</sup> PS) (Figura 1.4). En las hojas la concentración se mantuvo prácticamente estable, reconociéndose un pequeño incremento entre floración y pleno verano (agosto), y tras la segunda brotación, cuando alcanzó su máxima concentración (56,27 mg g<sup>-1</sup> PS). En el transcurso de la maduración del fruto, su concentración volvió a ser fluctuante (Figura 1.4). El período de crecimiento del fruto se vio acompañado, además, de una disminución constante de la concentración de perseitol en la pulpa+piel, hasta finalizada la segunda brotación, en que alcanzó la concentración mínima de todo el período de evaluación. A partir del final de esta brotación, se experimentó un fuerte incremento de la concentración de perseitol en pulpa+piel, el mayor dentro del período, alcanzando al final del período de maduración del fruto una concentración de 98,07 mg g<sup>-1</sup> PS. Cuando el fruto alcanzó la madurez fisiológica, los valores disminuyeron notoriamente hasta llegar, prácticamente, a los mínimos observados (Figura 1.4). En el pedúnculo del fruto, la concentración de perseitol se incrementó hasta el comienzo de la segunda brotación, a partir de la cual la disminuyó significativamente (Figura 1.4). Al contrario que para la pulpa+piel, el período de maduración del fruto se vio acompañado de un descenso en la concentración de perseitol en el pedúnculo del fruto, alcanzando al final del proceso el mínimo de todo el período de estudio (15,62 mg g<sup>-1</sup> PS). No obstante, la prolongación de la permanencia del fruto en el árbol se vio acompañada de un significativo incremento de la concentración de perseitol en el pedúnculo (Figura 1.4). Los contenidos de perseitol en la semilla se mantuvieron constantes hasta prácticamente finalizado el período de maduración del fruto. Posteriormente, la permanencia del fruto en el árbol hasta superada la etapa de madurez fisiológica provocó un fuerte incremento de su concentración llegando al máximo valor del período estudiado (95,46 mg g<sup>-1</sup> PS)

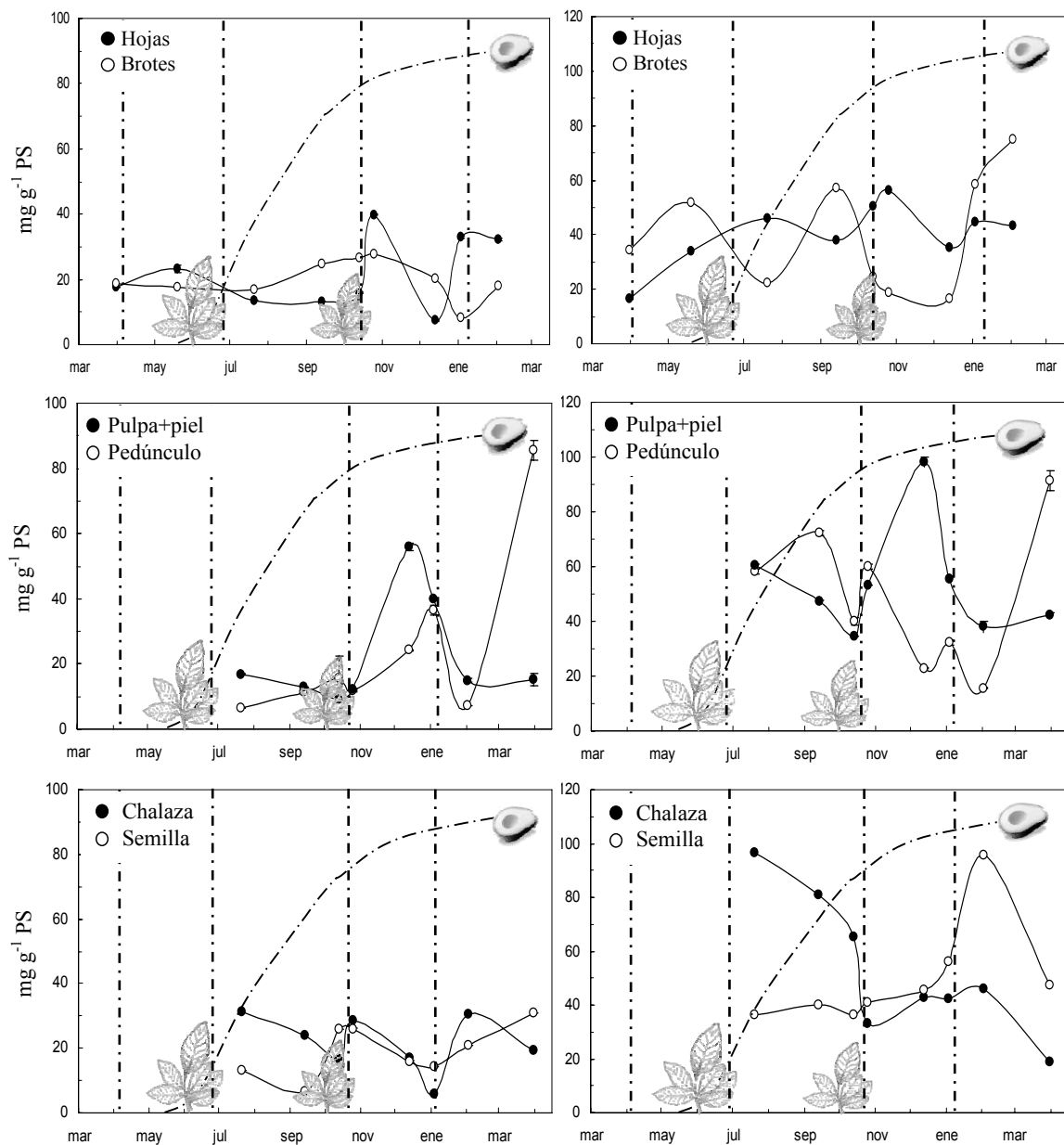
(Figura 1.4). La chalaza, por su parte, mostró desde un comienzo (a partir del momento en que se pudo aislar como tejido y analizar individualmente), un elevado contenido (el mayor de su período de evaluación) ( $96,55 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ) que fue gradualmente disminuyendo durante el período de crecimiento del fruto, con una drástica caída durante el desarrollo de la segunda brotación (Figura 1.4). Finalizada ésta, se mantuvo prácticamente estable hasta completar el período de maduración del fruto ( $33 \text{ a } 46 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ). Finalmente, disminuyó con el tiempo de un modo paralelo a como lo hizo en la semilla con la permanencia del fruto en el árbol (Figura 1.4).

Tanto la sedoheptulosa+fructosa como el perseitol predominaron en las hojas y los brotes provenientes de los árboles con mayor intensidad de floración (AF). Su concentración fue mayor en los brotes que en las hojas, y la ausencia de semillas redujo la concentración a valores similares a los de la floración menos intensa (Figura 1.5).

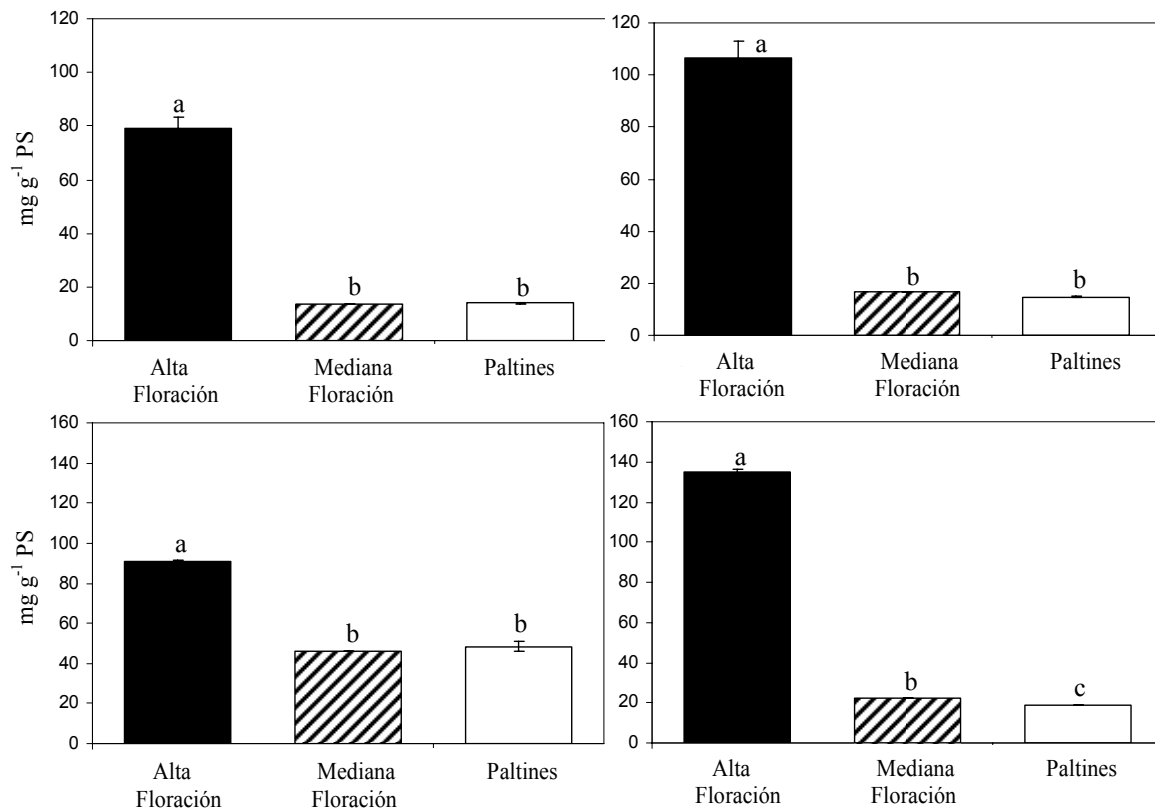
### ***1.2. Azúcares insolubles***

El almidón, en las hojas, presentó los valores mínimos durante el período de floración y cuajado ( $4,86 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ), aumentando gradualmente durante el desarrollo de la primera brotación, hasta llegar a un nivel estable ( $33 \text{ a } 44 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ) que se mantuvo hasta el final del período de evaluación (madurez del fruto) (Figura 1.6). En los brotes, la concentración disminuyó progresivamente desde la floración, hasta el final del período de crecimiento del fruto ( $20,11 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ). A partir de este momento, experimentó un incremento significativo, alcanzando su concentración máxima en el momento de la madurez fisiológica el fruto (enero). La permanencia del fruto en el árbol tras su maduración, se vio acompañada de un descenso en la concentración de almidón (Figura 1.6).

Capítulo 1. Aspectos nutricionales y endógenos relacionados con el desarrollo del fruto.  
Relación con la Intensidad de Floración.



**Figura 1.4.** Evolución de la concentración de sedoheptulosa+fructosa (izquierda) y perseitol en hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo y chalaza y semilla del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 repeticiones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo.



**Figura 1.5.** Influencia de la intensidad de floración y la ausencia de semilla en el fruto (frutos partenocárpicos, paltines) sobre la concentración de sedoheptulosa+fructosa (arriba) y perseitol en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Valores correspondientes al inicio del desarrollo del fruto (julio de 2005). Cada valor es la media de 4 determinaciones. Las barras verticales indican  $\pm$  ES.

Al comparar durante el período estival (julio) el contenido de almidón en hojas y brotes, y teniendo en cuenta la intensidad de floración con fruto con semilla y fruto partenocárpico, se pudo apreciar que, tanto las hojas como los brotes provenientes de una alta floración o de brotes con frutos partenocárpicos, presentaron concentraciones de almidón significativamente menores (alrededor de 5 mg g<sup>-1</sup> PS) que las hojas y los brotes provenientes de una floración mediana (34 a 37 mg g<sup>-1</sup> PS) (Figura 1.7). Destaca, además, que en ambos casos (AF y frutos partenocárpicos) no existió diferencia significativa entre las concentraciones de hojas y brotes. En cambio, en la intensidad de floración MF los brotes mostraron una mayor concentración de almidón que las hojas, aunque no se alcanzó la significación estadística. En la pulpa+piel, el almidón no presentó diferencias significativas debidas a la intensidad de floración, con concentraciones de 36,9 y 38,2 mg g<sup>-1</sup> PS para AF y MF, respectivamente (Figura 1.7).

Una fuerte y significativa diferencia entre las dos intensidades de floración se observó en el pedúnculo del fruto, presentando una mayor concentración los pedúnculos de los frutos proveniente de MF (37,1 mg g<sup>-1</sup> PS) que los de AF (3,7 mg g<sup>-1</sup> PS) (Figura 1.7).

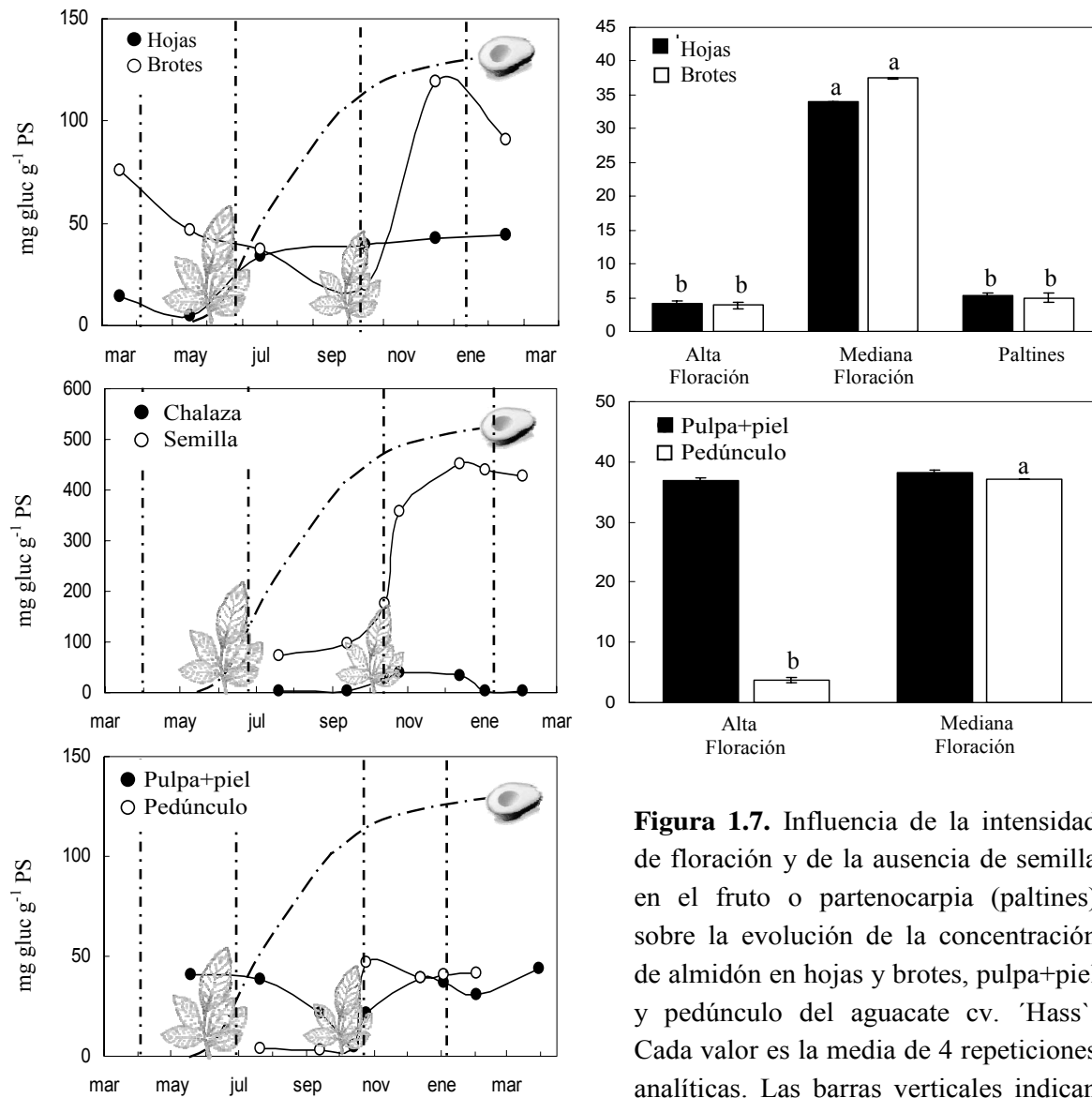
### **1.3. Fracciones nitrogenadas**

En las hojas, la evolución de la concentración del ión amonio (Figura 1.8) mostró una tendencia muy semejante a la observada en los brotes. Durante la primera brotación, disminuyó gradualmente, para incrementarse de nuevo a lo largo del período de crecimiento del fruto y descender durante la segunda brotación, hasta alcanzar valores mínimos (8,13 y 14,98 µg g<sup>-1</sup> PS, para hojas y brotes, respectivamente). Finalizada la segunda brotación, las concentraciones de iones amonio en órganos se incrementó hasta alcanzar los mayores valores de todo el período de evaluación (31,1 y 49,78 µg g<sup>-1</sup> PS, para las hojas y brotes, respectivamente). Excepto en el período de crecimiento del fruto, la concentración de iones NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en los brotes fue significativamente mayor que en las hojas (Fig.1.8).

Es destacable la elevada concentración de iones amonio que se observó en la chalaza desde que fue posible su análisis (comienzo del crecimiento acelerado del fruto; 121,16 µg g<sup>-1</sup> PS) (Figura 1.8). Con el crecimiento del fruto, su concentración disminuyó drásticamente hasta llegar a su mínima concentración durante la segunda brotación vegetativa (11,54 µg g<sup>-1</sup> PS) (Figura 1.8). Posteriormente, y durante el período de maduración del fruto, se incrementó hasta alcanzar un valor próximo a 60 µg g<sup>-1</sup> PS en el momento de la madurez fisiológica el fruto. La permanencia del fruto en el árbol se vio acompañada de una disminución del ión amonio en este tejido.

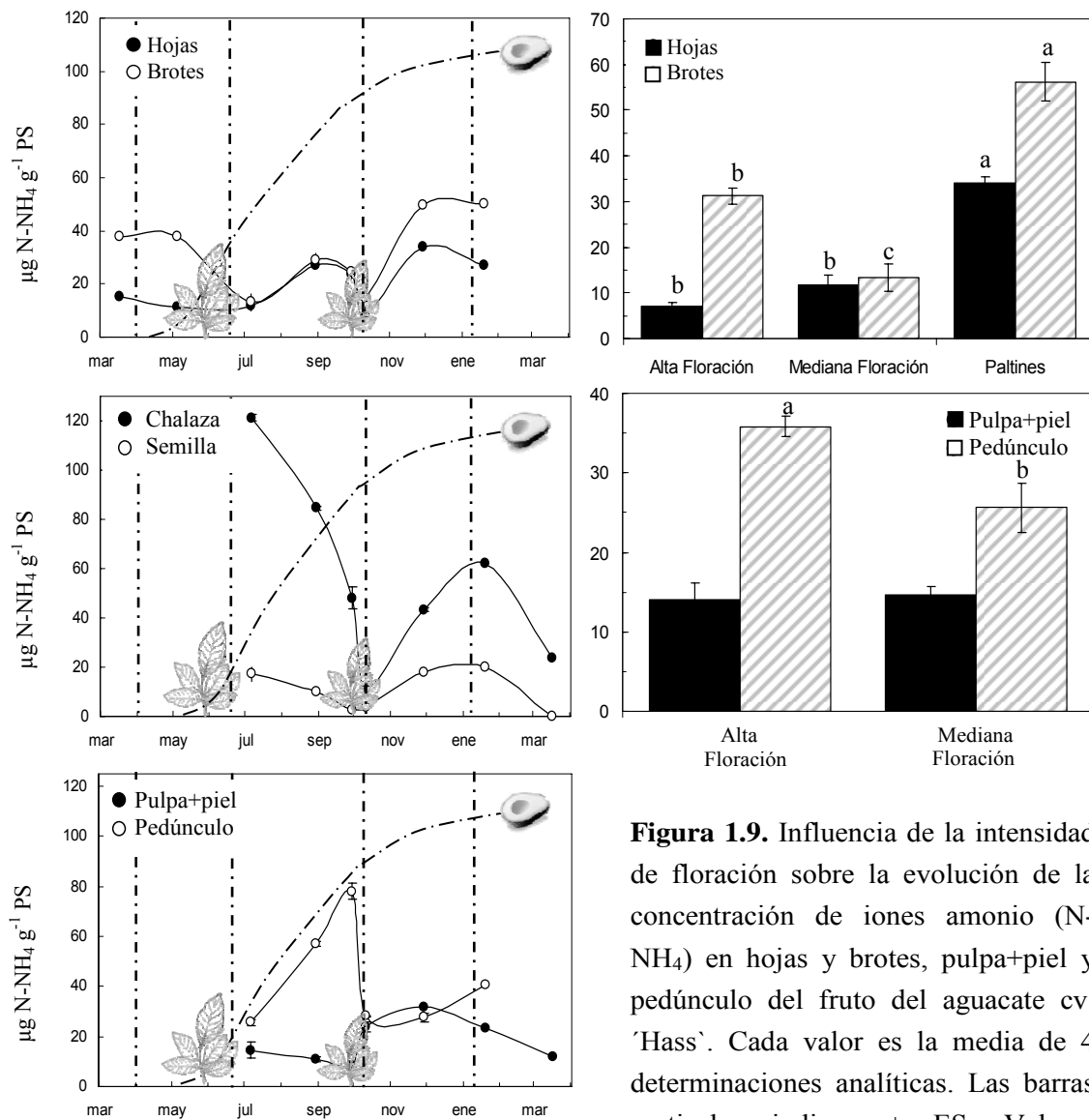
En la semilla, la concentración de iones amonio fue muy baja, alcanzando su nivel mínimo también durante la segunda brotación (3,49 µg g<sup>-1</sup> PS), y su máximo al finalizar el período de maduración del fruto (20,13 µg g<sup>-1</sup> PS) (Figura 1.8).

En la pulpa, el comportamiento del ión amonio fue muy similar al de la semilla, incluso en los valores observados (Figura 1.8). El pedúnculo del fruto, por su parte, presentó un continuo incremento durante el crecimiento del fruto, disminuyendo bruscamente al finalizar este período, para continuar estable hasta el momento de la madurez fisiológica del fruto (Figura 1.8).



**Figura 1.6.** Evolución de la concentración de almidón en hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo y chalaza y semilla del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo. Valores expresados como glucosa equivalente liberada en la reacción con amiloglucosidasa.

**Figura 1.7.** Influencia de la intensidad de floración y de la ausencia de semilla en el fruto o partenocarpia (paltines) sobre la evolución de la concentración de almidón en hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 repeticiones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Valores correspondientes al inicio de la fase exponencial del crecimiento del fruto (julio de 2005). Valores expresados como glucosa equivalente liberada en la reacción con amiloglucosidasa.



**Figura 1.8.** Evolución de la concentración de iones amonio (N-NH<sub>4</sub>) en hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo y chalaza y semilla del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican ± ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo.

**Figura 1.9.** Influencia de la intensidad de floración sobre la evolución de la concentración de iones amonio (N-NH<sub>4</sub>) en hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo del fruto del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican ± ES. Valores correspondientes al inicio de la fase exponencial del crecimiento del fruto (julio de 2005).



La intensidad de floración no modificó significativamente la concentración foliar de iones  $\text{NH}_4^+$  ni su concentración en la pulpa+piel (Figura 1.9). Sin embargo, en los brotes y en el pedúnculo del fruto su concentración aumentó con la intensidad de floración (31,24 y 13,35  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS en los brotes y 35,85 y 25,61  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS en el pedúnculo para AF y MF, respectivamente) (Figura 1.9).

La concentración foliar de iones nitrato disminuyó progresivamente desde floración (21,45  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS), hasta el comienzo de la segunda brotación vegetativa (5,18  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS). Posteriormente, se produjo un pequeño incremento que permaneció hasta el final del período de evaluación (Figura 1.10). La concentración de iones nitrato en los brotes, semilla, chalaza, pulpa+piel y pedúnculo del fruto, fue muy escasa y no presentaron grandes fluctuaciones a lo largo del tiempo (Figura 1.10).

Una comparación de las concentraciones de iones nitrato entre dos niveles de floración y en brotes con frutos partenocárpico se muestra en la Figura 1.11. En el momento en que el fruto inició su desarrollo, la concentración foliar de  $\text{NO}_3^-$  fue tanto mayor cuanto mayor fue la floración (27,56 y 19,90  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS para AF y MF, respectivamente), alcanzando la diferencia la significación estadística. La ausencia de semilla situó la concentración foliar del nutriente en valores similares a los de la MF (19,3  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS). En ningún otro caso (brotes, pulpa+piel y pedúnculo) se detectaron diferencias significativas por efecto de la floración o la ausencia de semilla.

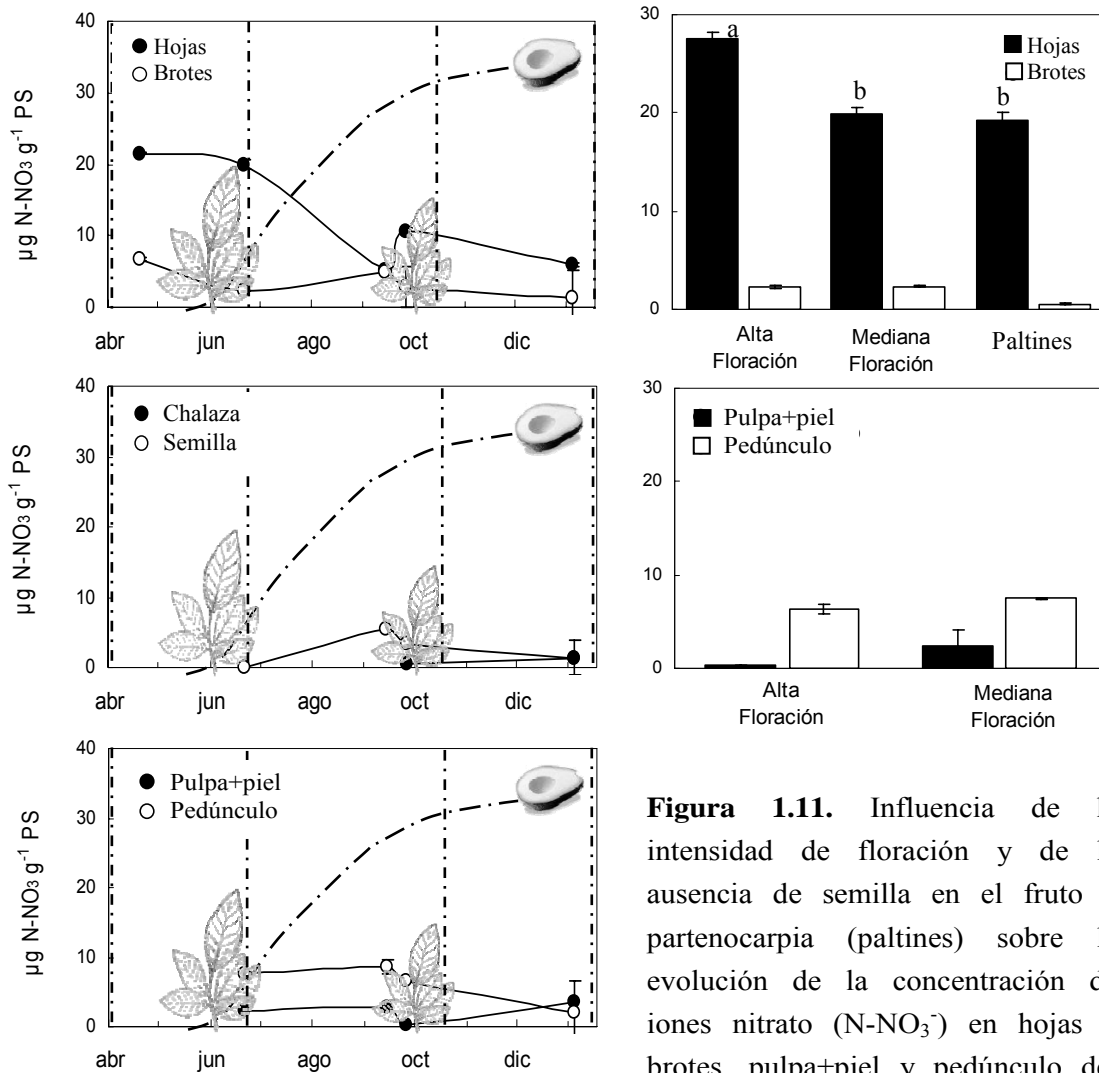
El nitrógeno proteico sólo presentó variaciones apreciables en las hojas. En el resto de órganos y tejidos, es decir, brotes, chalaza, semilla, pulpa+piel y pedúnculo del fruto, la concentración permaneció estable a lo largo del período de estudio (Figura 1.12). En las hojas, la concentración máxima fue detectada en floración (2,13%). Con el transcurso de ésta y del desarrollo del fruto, el contenido de N-proteico descendió, y solamente con el desarrollo del segundo crecimiento vegetativo se incrementó ligeramente (Figura 1.12).

La influencia de la intensidad de floración y de la ausencia de semilla la concentración de N-proteico en hojas, brotes, pulpa+piel y pedúnculo se muestra en la Figura 1.13. La intensidad de floración MF presentó contenidos foliares significativamente mayores de N-proteico que la AF y los frutos partenocárpico. En los brotes, pulpa+piel y pedúnculo del fruto, no se apreciaron diferencias significativas en las concentraciones de N-proteico (Figura 1.13).

#### **1.4. Clorofilas totales**

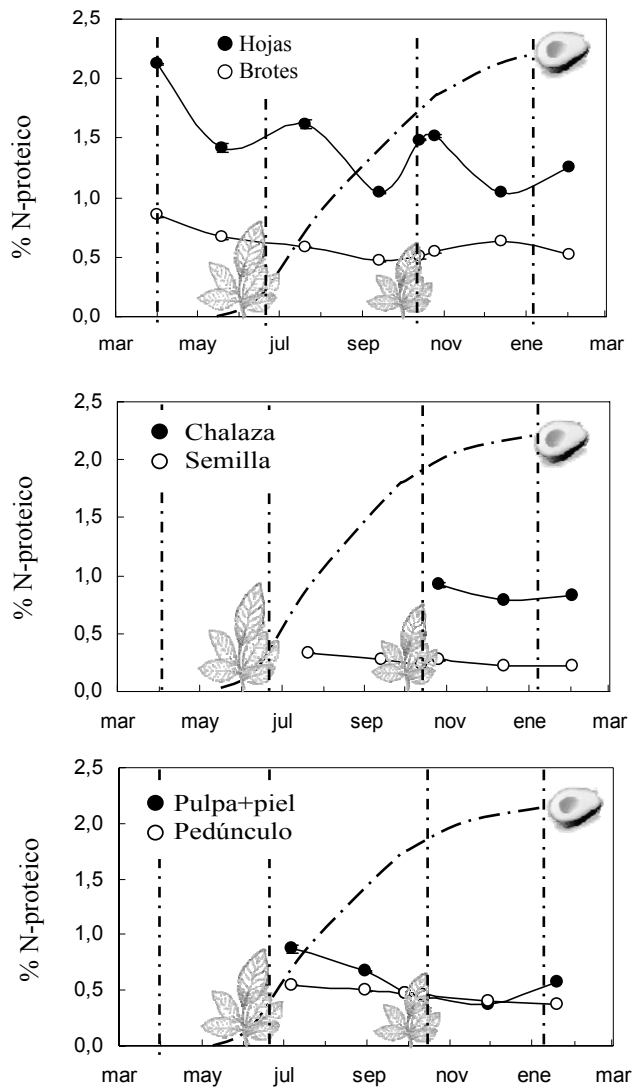
En los árboles de elevada floración, las clorofilas totales presentaron dos máximos durante el período de estudio. El primero correspondió al período previo a la floración (marzo), con una concentración de 5,07 mg g<sup>-1</sup> PS, el segundo al final del período de crecimiento del fruto y coincidiendo con el desarrollo de la segunda brotación vegetativa (4,9 mg g<sup>-1</sup> PS) (Figura 1.14). Entre medio tuvo lugar un descenso, justo al finalizar la primera brotación (2,45 mg g<sup>-1</sup> PS). El comportamiento de los árboles con mediana floración fue similar, con la excepción de que no hubo descenso alguno al final de la primera brotación (3,89 mg g<sup>-1</sup> PS) (Figura 1.14). Para ambos casos, el período de maduración del fruto se vio acompañado de un descenso de la concentración de clorofilas totales.

En el momento en que el fruto iniciaba su crecimiento lineal, se apreció una fuerte disminución de la concentración de clorofilas totales en las hojas de los árboles con elevada intensidad de floración, que llegó a ser un 37% y un 30% menor de la observada en la MF y en las hojas de brotes con fruta partenocárpica, respectivamente (Figura 1.15).

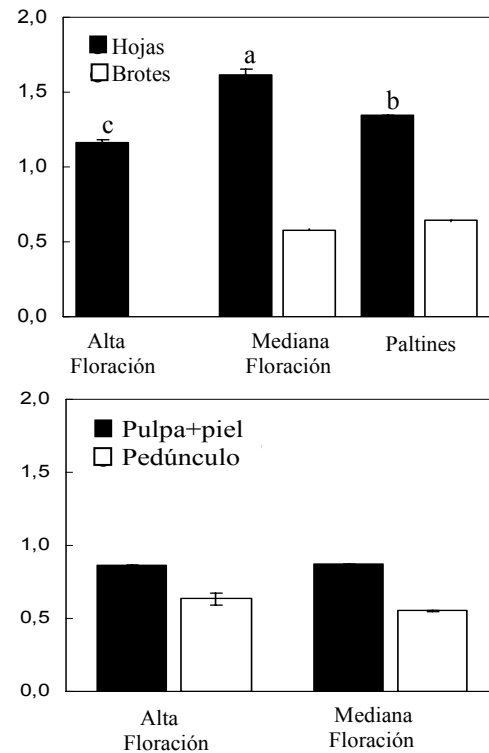


**Figura 1.10.** Evolución de la concentración de iones nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) en hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo y chalaza y semilla del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo.

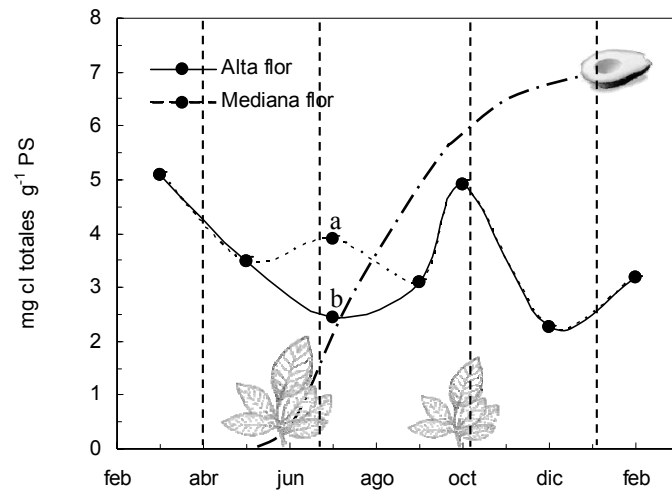
**Figura 1.11.** Influencia de la intensidad de floración y de la ausencia de semilla en el fruto o partenocarpia (paltines) sobre la evolución de la concentración de iones nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) en hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Valores correspondientes al inicio de la fase exponencial del crecimiento del fruto (julio de 2005).



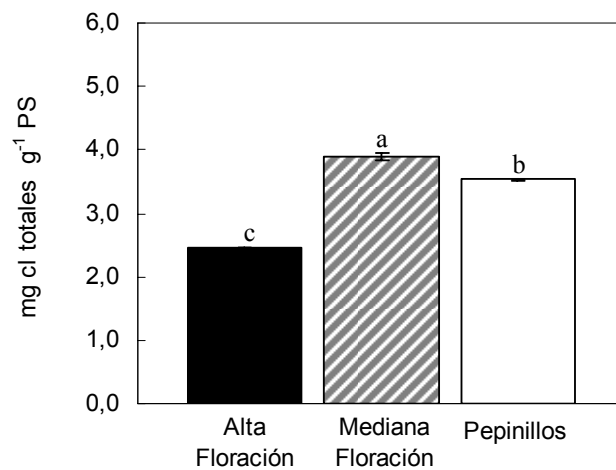
**Figura 1.12.** Evolución de la concentración de nitrógeno proteico (N-Proteico) en hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo y chalaza y semilla del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo.



**Figura 1.13.** Influencia de la intensidad de floración y de la ausencia de semilla en el fruto o partenocarpia (paltines) sobre la evolución de la concentración de nitrógeno proteico en hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo del fruto del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Valores correspondientes al inicio de la fase exponencial del crecimiento del fruto (julio de 2005).



**Figura 1.14.** Evolución de la concentración de clorofilas totales en las hojas del aguacate cv. 'Hass'. Influencia de la intensidad de floración. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Los ES fueron menores que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo.



**Figura 1.15.** Influencia de la intensidad de floración y de la ausencia de semilla (frutos partenocárpico, paltines) sobre el contenido de clorofilas totales al inicio del desarrollo del fruto (julio de 2005). Cada valor es la media de 4 determinaciones. Las barras verticales indican el ES.

### **1.5. Proteínas totales**

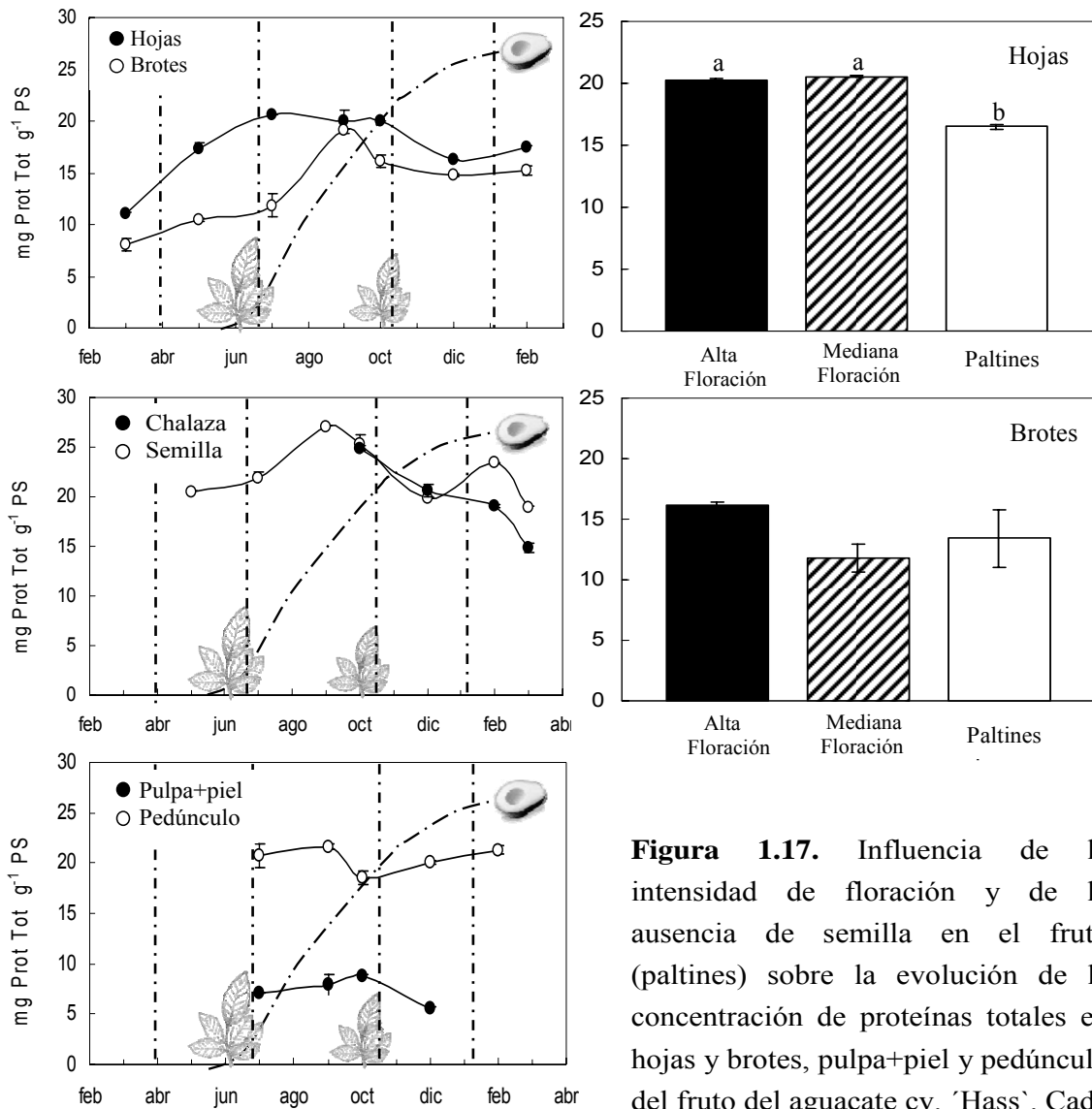
Las hojas presentaron, desde la época previa a la floración, un constante incremento de la concentración de proteínas totales, llegando a su máximo al final del primer crecimiento vegetativo y comienzo del período de crecimiento lineal del fruto (20,58 mg g<sup>-1</sup> PS), y manteniéndose prácticamente estable hasta el final de éste (Figura 1.16). El período de maduración del fruto se vio acompañado de un suave descenso en la concentración de proteínas totales.

En los brotes, se observó un claro aumento durante el crecimiento del fruto, que finalizó con el comienzo de la segunda brotación. Desde entonces, la concentración de proteínas totales se mantuvo constante hasta el final del período de evaluación (Figura 1.16). En ambos casos (hojas y brotes) la concentración de N-proteico fue mayor al inicio del período de brotación del segundo año (Figura 1.16).

En la semilla, al igual que en las hojas, también se observó un incremento de la concentración de proteínas totales durante el período de crecimiento lineal del fruto, alcanzando los valores máximos (27,08 mg g<sup>-1</sup> PS). Posteriormente, la concentración disminuyó progresivamente hasta casi el final del período de maduración del fruto. La semilla, luego de haber alcanzada la madurez, experimentó un nuevo y breve aumento de las proteínas totales, que finalmente se revirtió con el avance del tiempo. Cabe señalar que tanto la semilla como la chalaza presentaron los mayores niveles de proteínas totales dentro de los órganos y tejidos analizados, y comportamientos muy similares, tanto en la tendencia de la evolución de las proteínas totales, como en su concentración, exceptuando el final del período de maduración durante el tiempo de permanencia del fruto en el árbol (Figura 1.16).

El pedúnculo del fruto y la pulpa+piel presentaron tendencias apreciables durante el período de estudio. La pulpa+piel presentó las menores concentraciones de proteínas totales de entre todos los tejidos y órganos analizados (entre 5,6 y 8,8 mg g<sup>-1</sup> PS).

La intensidad de floración no modificó la concentración foliar de proteínas totales y tampoco lo hizo en los brotes (Figura 1.17). Solamente la presencia de paltines, esto es, de frutos sin semilla, consiguió reducirla en las hojas.



**Figura 1.16.** Evolución de la concentración de proteínas totales en hojas y brotes, chalaza y semilla y pulpa+piel y pedúnculo del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo.

**Figura 1.17.** Influencia de la intensidad de floración y de la ausencia de semilla en el fruto (paltines) sobre la evolución de la concentración de proteínas totales en hojas y brotes, pulpa+piel y pedúnculo del fruto del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Valores correspondientes al inicio de la fase exponencial del crecimiento del fruto (julio de 2005).





## CAPITULO 2



### ***Determinación de la Época durante la cual el Fruto Ejerce su Influencia Inhibidora de la Floración***



## CAPITULO 2

---

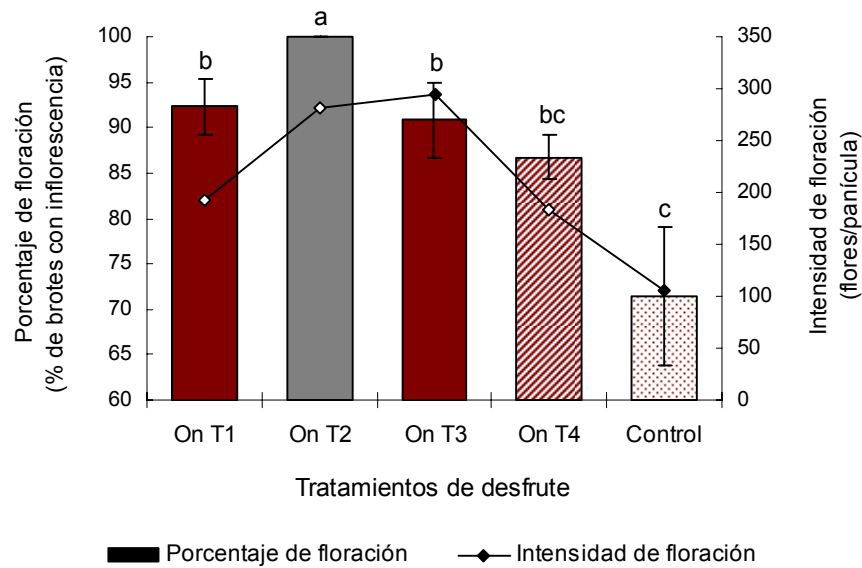
### **Determinación de la Época durante la cual el Fruto Ejerce su Influencia Inhibidora de la Floración.**

#### ***2.1. Efecto del fruto sobre el proceso de floración***

Dentro de las fechas de desfrute, todos los tratamientos incrementaron la floración con respecto al control ( $P \leq 0.05$ ). Sin embargo, el desfrute realizado al final de la primera caída de frutitos (T2) mostró el más alto porcentaje de floración (Figura 2.1), con un 100% de brotes florales. Similar tendencia fue encontrada en la intensidad de floración, medida como el número de flores por panícula. El mayor número de flores por panícula se obtuvo en T2 y T3, sin diferencia significativa entre ambos ( $P \leq 0.05$ ). El control mostró los niveles más bajos en ambos parámetros, porcentaje de floración e intensidad de floración. La fecha de desfrute más efectiva, evaluada como porcentaje de floración e intensidad de floración, fue T2.

#### ***2.2. Efecto de los frutos sobre el contenido en carbohidratos***

La plena floración coincidió con el menor contenido de azúcares C7 ( $97 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  PS) en los controles (Figura 2.2a). A este le siguió un brusco incremento, coincidente con el desarrollo de la primera brotación, que alcanzó el valor más alto de los analizados ( $180 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  PS). A medida que el fruto continuó su crecimiento (final de la primera caída de frutitos hasta el período inductivo), el contenido de azúcares C7 disminuyó gradualmente en todo los tratamientos. Las diferencias en los contenidos de azúcares C7 entre árboles con fruto y sin fruto y los controles comenzaron a ser estadísticamente significativos a partir del período de inducción (octubre; T4) hasta la madurez. Esta fecha (madurez de la fruta), mostró en general una marcada tendencia al aumento del contenido de azúcares C7 en todos los casos (árboles con fruto y desfrutados), pero este incremento fue mayor en los árboles con frutos.

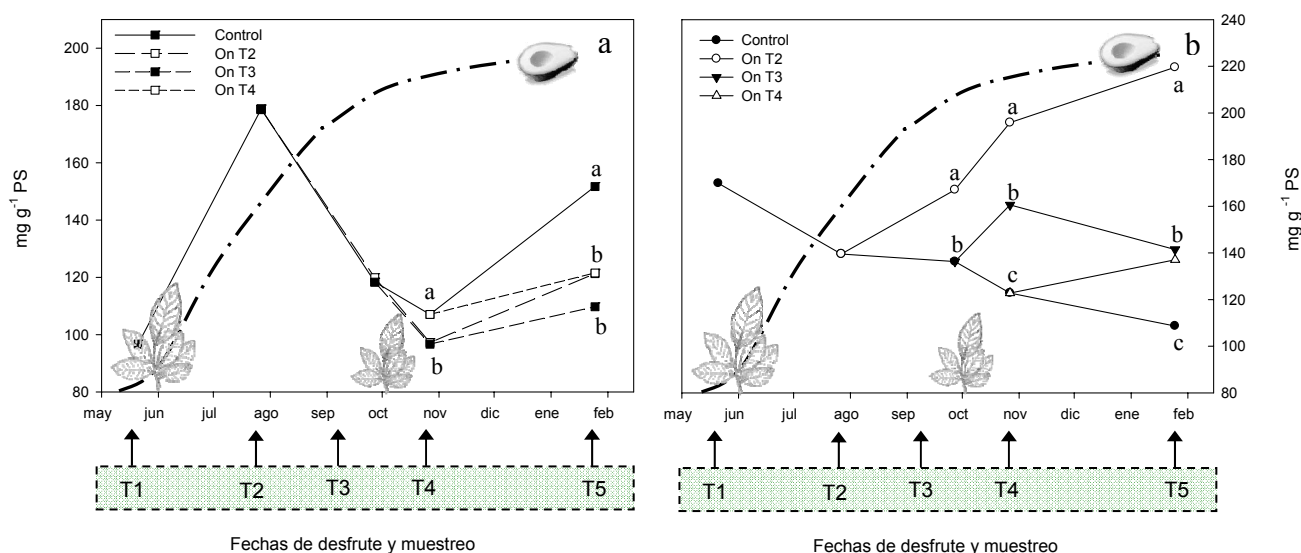


**Figura.2.1.** Influencia de la presencia del fruto sobre el porcentaje de floración e intensidad de floración evaluados en la siguiente temporada. Cada valor es la media de 25 repeticiones. Las barras verticales indican el ES. T1, T2, T3 y T4 indican las fechas en que se eliminaron los frutos (ver Tabla 4 en Material y Métodos). Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

En plena floración la concentración foliar de azúcares de seis carbonos (C6) fue casi dos veces superior a la de los azúcares C7. Con el tiempo, los tratamientos de desfrute On T2, On T3 y On T4 mostraron un cambio en la tendencia de la concentración de azúcares C6 en comparación con los controles, mostrando un incremento gradual a partir del momento del desfrute. Resulta de interés destacar que durante el período de inducción (T4), los tratamientos con más altos niveles de floración (On T2 y On T3; Figura 2.1), alcanzaron los mayores contenidos de azúcares C6 ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 2.2b). Durante el periodo de maduración, se encontró una clara diferencia en la concentración de azúcares C6 entre los tratamientos de desfrute ( $P \leq 0.05$ ), mostrando el tratamiento On T2 la concentración más alta y los controles la más baja (Figura 2.2b).

En los brotes (Figura 2.3), el contenido de azúcares C7 fue mayor, en general, que el de las hojas (Figura 2.2). Durante el segundo período de abscisión de frutitos (T3), la diferencia entre los tratamientos de desfrute y control alcanzó la significación estadística ( $P \leq 0.05$ ), mostrando los tratamientos con más altos niveles de floración

(On T2) las más altas concentraciones de azúcares C7 (213 mg·g<sup>-1</sup> PS). Hacia el período de inducción floral (octubre), los tratamientos de desfrute On T2 y On T3 exhibieron las más altas concentraciones de azúcares C7 comparado con los controles ( $P \leq 0.05$ ) (Figura 2.3a).

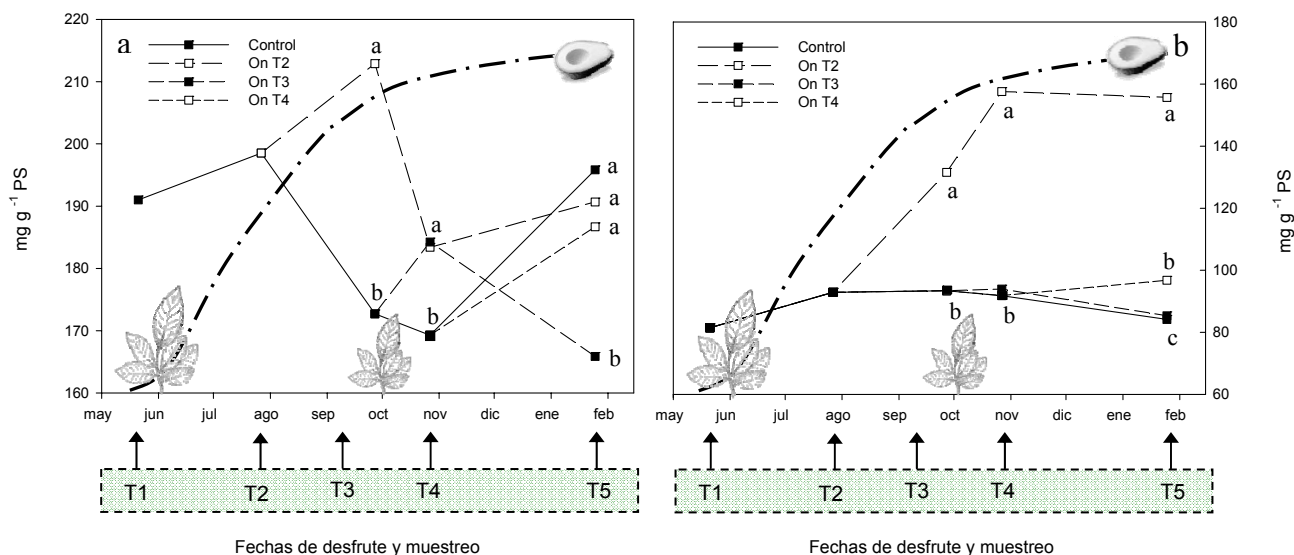


**Figura 2.2.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de azúcares C7 (a) y C6 (b) en hojas del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

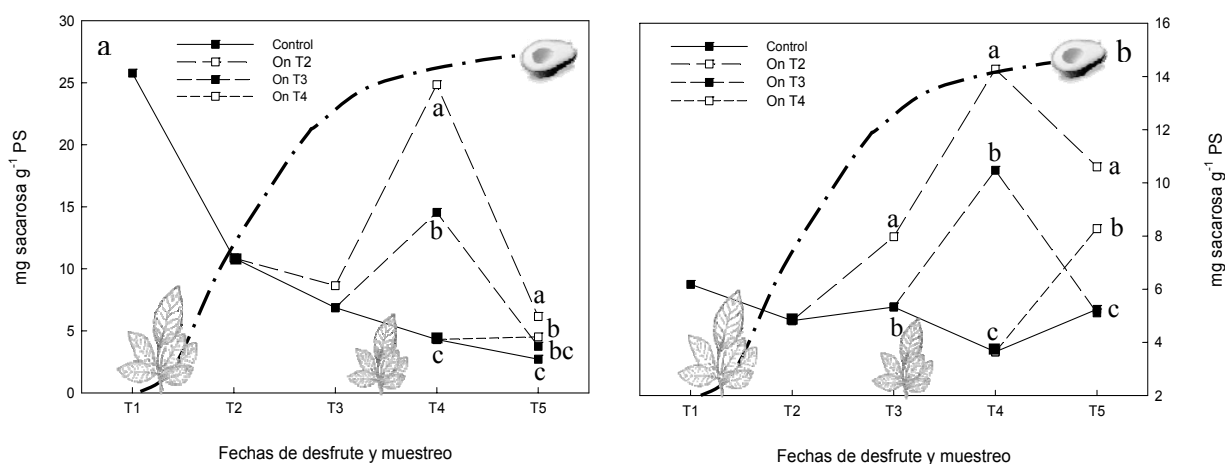
La concentración de los azúcares de seis carbonos en los brotes (Figura 2.3b), no fue alterada significativamente por efecto de los tratamientos de desfrute, con la excepción del tratamiento On T2, que mostró un constante incremento hasta el momento de la inducción floral (finales de octubre).

La sacarosa de las hojas (Figura 2.4a) mostró un aumento significativo en los tratamientos de desfrute On T2 y On T3 en el momento del periodo inducción, T4, (25 y 15 mg·g<sup>-1</sup> PS, respectivamente) en comparación a los árboles que mantenían el fruto (4,3 mg·g<sup>-1</sup> PS). Este incremento se perdió a lo largo del período de maduración, momento en el que todos los tratamientos alcanzaron los valores más bajos de sacarosa (3-8 mg·g<sup>-1</sup> PS) y sin que difirieran significativamente entre sí. La sacarosa de los brotes (Figura 2.4b) tuvo una tendencia similar hasta el período de inducción (T4). En este momento fue evidente una diferencia significativa entre los tratamientos, siendo On T2 y On T3 los que presentaron los contenidos más altos, con 14 y 10 mg·g<sup>-1</sup> PS,

respectivamente. Los brotes del tratamiento On T2 mostraron mayor concentración de sacarosa en todas las fechas, si bien todos los tratamientos incrementaron su concentración (Figura 2.4b).



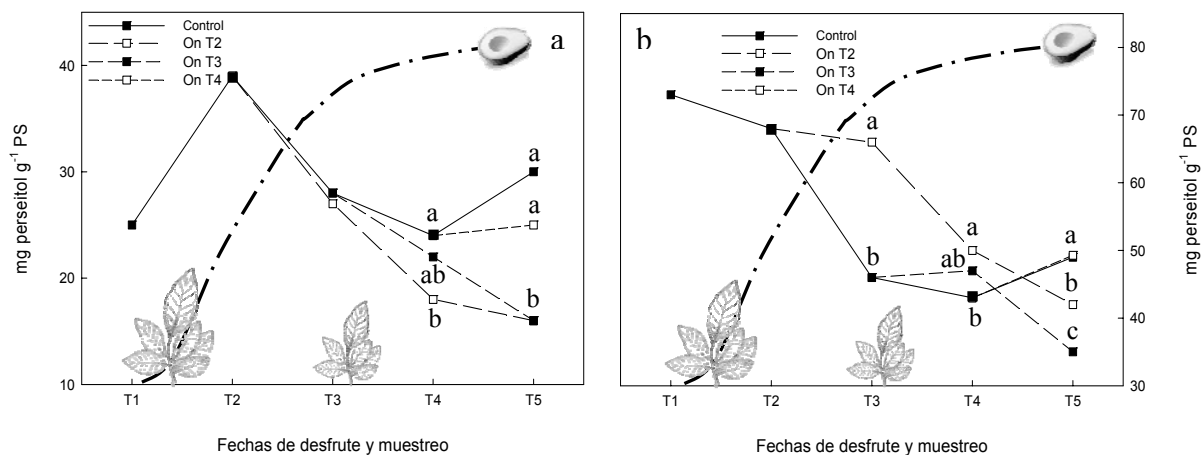
**Figura 2.3.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de azúcares C7 (a) y C6 (b) en los brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).



**Figura 2.4.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de sacarosa en hojas (a) y brotes (b) del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

La evolución de la concentración de perseitol de las hojas (Figura 2.5a) mostró una tendencia opuesta a la sacarosa, encontrándose los menores contenidos para el control en el momento de la plena floración (T1) (24,9 mg·g<sup>-1</sup> PS). A partir de ese momento, y en coincidencia con el desarrollo de la primera brotación, la concentración de perseitol aumentó, alcanzando un máximo al final de la primera caída de frutitos (T2) (39,6 mg·g<sup>-1</sup> PS). A partir de esta fecha, la concentración de perseitol descendió. Durante el periodo de maduración, los tratamientos On T2 y On T3 mostraron los valores más bajos de todo el período de evaluación (16 y 17 mg·g<sup>-1</sup> PS, respectivamente).

En los brotes (Figura 2.5b), los árboles control mostraron los contenidos más altos de perseitol durante la floración y el cuajado del fruto, disminuyendo a continuación, progresivamente, hasta la maduración. Al igual que en las hojas, en general hubo en los brotes una tendencia a la disminución de la concentración de perseitol para todo los tratamientos de eliminación del fruto. Los valores más bajos se obtuvieron para los brotes de los árboles a los que se les quitó el fruto en On T3 y On T2 (35 y 42 mg·g<sup>-1</sup> PS, respectivamente) y al final del período de maduración del fruto (T5).

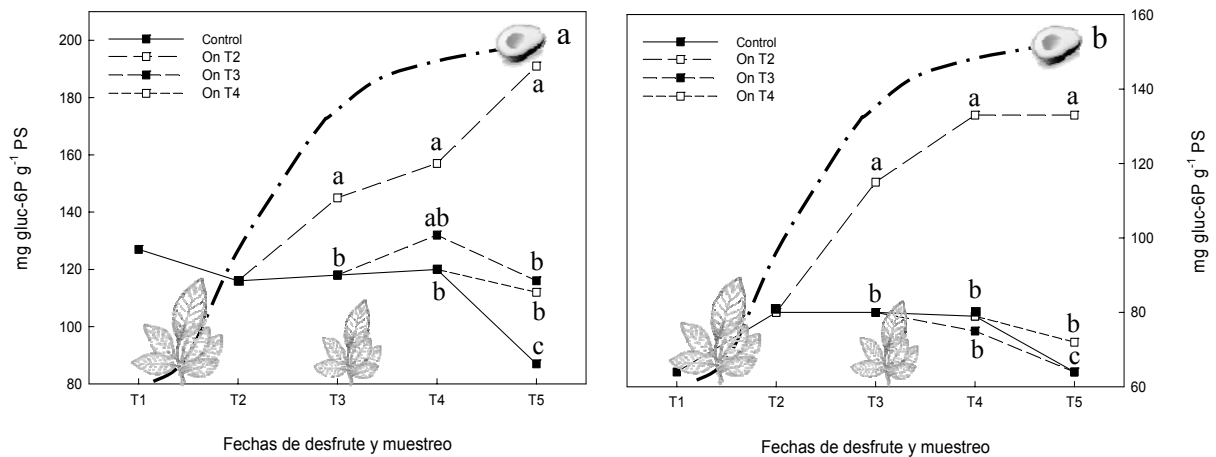


**Figura 2.5.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de perseitol en hojas (a) y brotes (b) del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

La gluc-6-P constituyó una proporción importante de los azúcares de seis carbonos. En las hojas (Figura 2.6a), la concentración de gluc-6-P fue siempre mayor en los

árboles a los que se les eliminó el fruto, independientemente de la fecha en que se llevó a cabo. Tras cada fecha de eliminación de los frutos se presentó un incremento inmediato de la concentración de gluc-6-P. Con la excepción del On T2, éstos presentaron una disminución gradual durante el período de su desarrollo, alcanzando la concentración más baja en el momento de la maduración del fruto. En este momento, el tratamiento de disfrute On T2 mostró la concentración más alta de gluc-6-P (191,2 mg·g<sup>-1</sup> PS), más de dos veces superior a la del control (87,4 mg·g<sup>-1</sup> PS).

En los brotes (Figura 2.6b), no hubo diferencia entre el control y los tratamientos, con excepción del tratamiento On T2, que alcanzó valores (131,7 mg·g<sup>-1</sup> PS) más de dos veces superiores a los del control (64,5 mg·g<sup>-1</sup> PS).

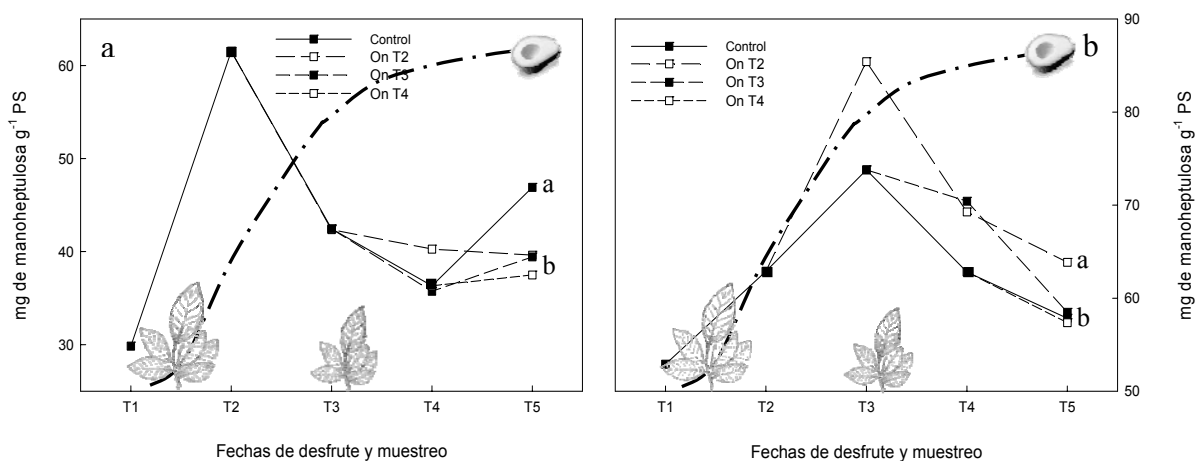


**Figura 2.6.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de gluc-6-P en hojas (a) y brotes (b) del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

La manoheptulosa mostró la concentración más baja en el período de plena floración, tanto para hojas como para brotes (Figura 2.7). En las hojas (Figura 2.7a), hubo un marcado incremento en T2, coincidente con el desarrollo de la primera brotación. Posteriormente, en T3, la concentración de manoheptulosa descendió en todos los tratamientos, manteniéndose prácticamente constante hasta la maduración del fruto. Solamente los controles mostraron, en T5, un incremento de la concentración, alcanzando los valores más altos de todos los tratamientos (46,9 mg·g<sup>-1</sup> PS).



En los brotes (Figura 2.7b), hubo también un incremento de la concentración de manoheptulosa, pero más prolongado, manteniéndose hasta el final de la segunda caída de frutitos (T3). Sin embargo, en los tratamientos On T2 y On T3 se observó un incremento de la concentración de manoheptulosa después de eliminar los frutos (Figura 2.7b). En el momento de la maduración del fruto (T5), sólo el tratamiento On T2 mostró una mayor concentración de manoheptulosa en los brotes.



**Figura 2.7.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de manoheptulosa en hojas (a) y brotes (b) del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

La permanencia del fruto en el árbol no afectó la concentración de almidón de las hojas (Tabla 2.1), pero fue evidente un progresivo incremento con el tiempo, siendo los menores contenidos en verano y los mayores en invierno, antes de la floración. La fecha de desfrute T4 mostró diferencias significativas en las concentraciones de almidón, sin una clara tendencia entre tratamientos. En los brotes, sin embargo, se mostraron incrementos significativos de la concentración para los tratamientos On T2 y On T3, desde el final de la segunda caída de frutos hasta la maduración del fruto.

### 2.3. Efecto del fruto sobre el contenido en clorofilas

En general, el contenido en clorofila *a* mostró una correlación inversa, significativa, con los parámetros de floración, en tres de las fechas de muestreo (Tabla 2.2). Los tratamientos con los mayores porcentajes e intensidades de floración tuvieron

los menores contenidos de clorofila (Figura 2.8). Después de cada tratamiento de desfrute se observó una marcada reducción del contenido de clorofila *a*, manteniéndose esta tendencia hasta el período de floración.

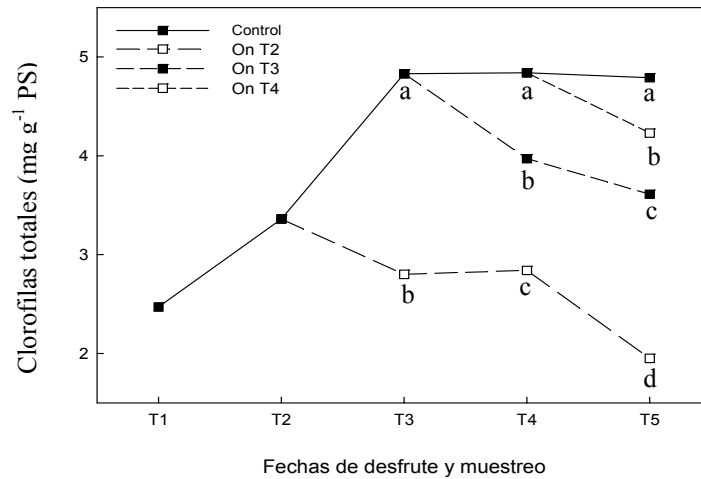
**Tabla 2.1.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de almidón de las hojas y los brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Valores expresados en mg gluc liberada g<sup>-1</sup> PS. Letras diferentes dentro de una columna indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

| <b>Hojas</b>  |        |            |          |           |
|---------------|--------|------------|----------|-----------|
| Tratamiento   | Julio  | Septiembre | Octubre  | Enero     |
| On T2         | 48.455 | 47.32      | 53.09 a  | 66.53     |
| On T3         |        | 47.95      | 41.37 b  | 67.68     |
| On T4         |        |            | 55.10 a  | 62.70     |
| Control       | 48.455 | 47.95      | 55.10 a  | 61.66     |
|               | ns     | ns         | *        | ns        |
| <b>Brotes</b> |        |            |          |           |
| Tratamiento   | Julio  | Septiembre | Octubre  | Enero     |
| On T2         | 49.86  | 58.67 a    | 91.88 a  | 108.62 ab |
| On T3         |        | 47.54 b    | 82.91 ab | 119.70 a  |
| On T4         |        |            | 72.30 b  | 111.72 ab |
| Control       | 49.86  | 47.54 b    | 72.30 b  | 101.37 b  |
|               | ns     | *          | *        | *         |

**Tabla 2.2.** Coeficientes de correlación (R) entre la concentración de clorofila *a* de las hojas del aguacate cv. 'Hass' y el porcentaje e intensidad de floración siguiente.

| Fecha           | Porcentaje de Floración | Intensidad de Floración |
|-----------------|-------------------------|-------------------------|
| Septiembre (T3) | -0.87 *                 | -0.91 **                |
| Octubre (T4)    | -0.84 **                | -0.76 *                 |
| Enero (T5)      | -0.90 **                | -0.78 *                 |

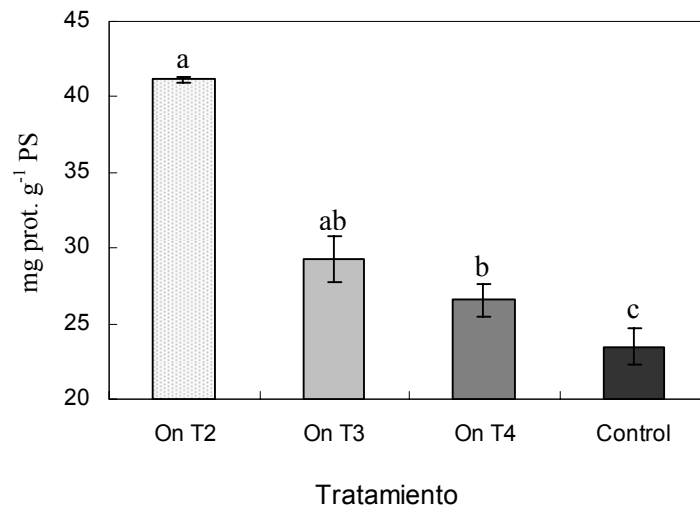
\*  $P \leq 0.1$  \*\*  $P \leq 0.05$



**Figura 2.8.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de clorofilas totales de hojas del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

#### 2.4. Efectos del fruto sobre el contenido de proteínas totales solubles

La concentración de proteínas totales solubles de las hojas, medidas durante la maduración del fruto (Figura 2.9), fue significativamente mayor en todos los tratamientos respecto del control ( $P \leq 0.05$ ). Por otra parte, su contenido analizado durante el período de maduración del fruto (T5) presentó una elevada correlación positiva y significativa con la floración siguiente ( $R=0.92$ ,  $P \leq 0.001$ ) (Tabla 2.3).



**Figura 2.9.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de proteínas totales solubles en las hojas del aguacate cv. 'Hass'. Valores correspondientes a la etapa de maduración del fruto. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

**Tabla 2.3.** Coeficientes de correlación (R) entre la concentración de proteínas totales solubles en las hojas del aguacate cv. 'Hass' evaluada durante la etapa de maduración del fruto (T5) y el porcentaje e intensidad de la floración siguiente, para diferentes fechas de eliminación del fruto y muestreo. El asterisco indica significancia estadística ( $P \leq 0.001$ ).

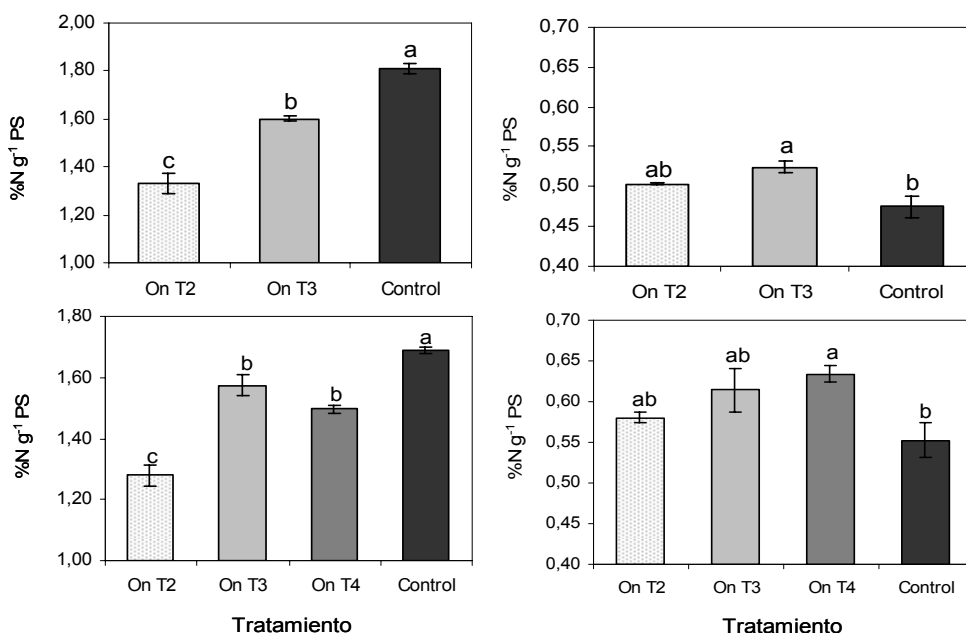
| Fecha | R                       |                         |
|-------|-------------------------|-------------------------|
|       | Porcentaje de Floración | Intensidad de Floración |
| T3    | 0.34                    | 0.06                    |
| T4    | 0.58                    | 0.37                    |
| T5    | 0.92 *                  | 0.66                    |

### 2.5. Influencia de la permanencia del fruto sobre el contenido en fracciones nitrogenadas

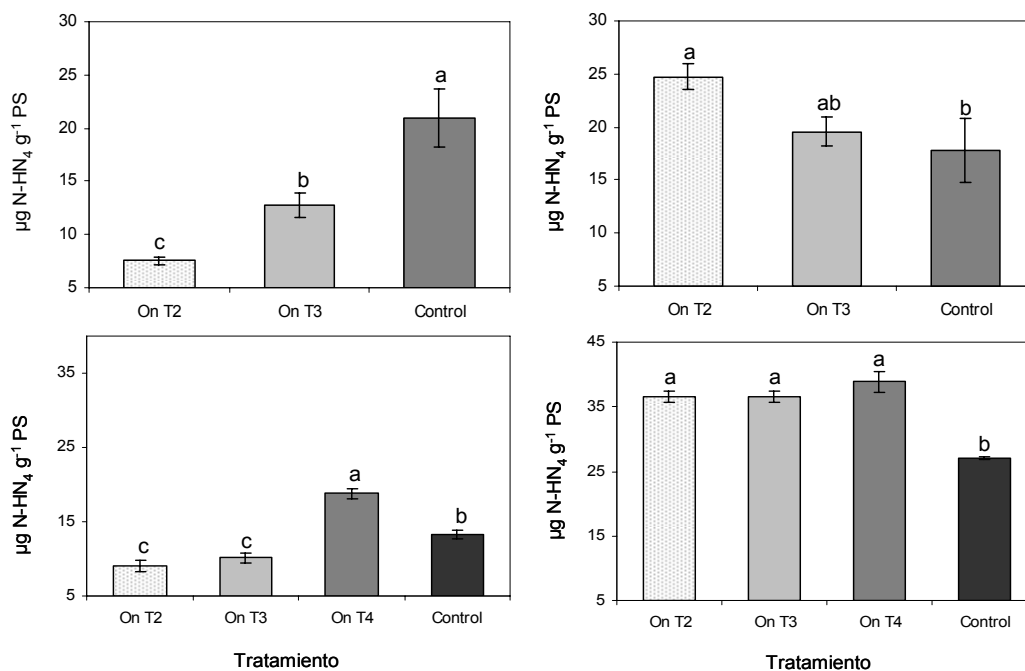
La eliminación del fruto al final de la primera (T2) y de la segunda (T3) caídas de frutos redujo significativamente la concentración de N proteico respecto de los controles en las hojas, medida durante la época de inducción floral y en la época de maduración del fruto (Figura 2.10) La eliminación del fruto durante la época de inducción floral (T4) tuvo su reflejo en el momento de la maduración, reduciéndola significativamente

respecto del control. En el caso de los brotes, se presentó el efecto opuesto. La eliminación del fruto incrementó significativamente la concentración de N proteico, independientemente de la fecha de eliminación del fruto y de análisis (Figura 2.10). En las fechas T4 y T5 se determinó una correlación significativa entre la concentración foliar de nitrógeno proteico y el porcentaje de floración ( $P \leq 0.05$ ) (Tabla 2.4).

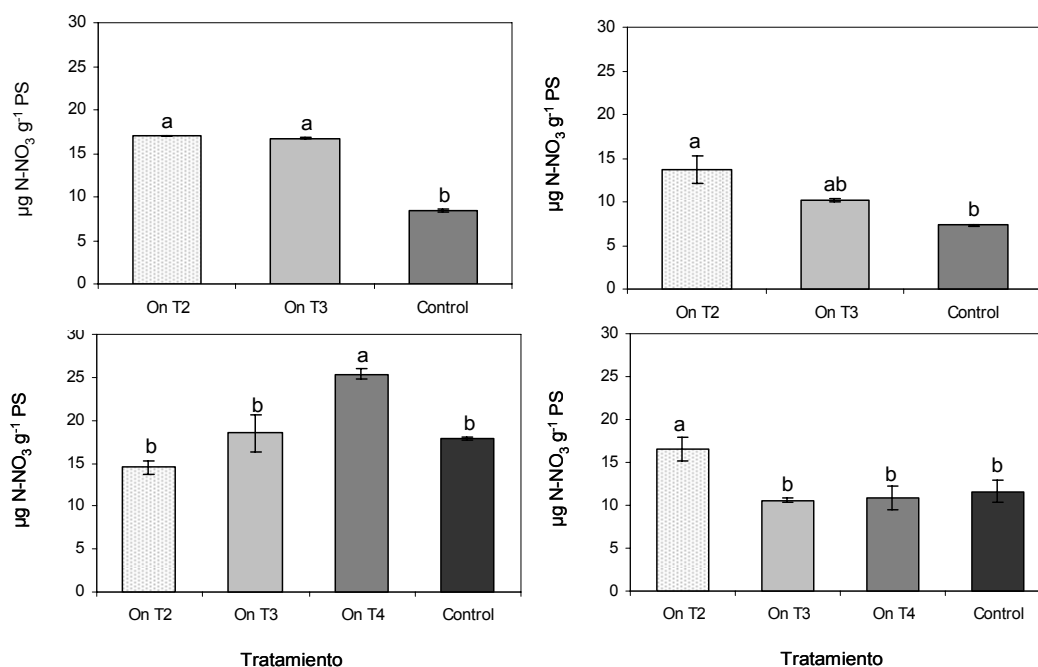
En el caso del ión amonio, la concentración en las hojas fue significativamente menor para todos los tratamientos, referidos al control, y en ambas fechas de análisis (Figura 2.11). Sólo cuando el fruto se eliminó en el momento de inducción floral se observó un incremento significativo de la concentración foliar de  $N-NH_4^+$  en el momento de la maduración del fruto. Los brotes presentaron una tendencia opuesta a la de las hojas en la concentración de  $N-NH_4^+$  (Figura 5.11). La eliminación del fruto incrementó significativamente su concentración en el momento de la maduración del fruto. Cuando aquella se determinó en la época de inducción floral, sólo los árboles a los que se eliminó el fruto al final de la primera caída fisiológica de frutos (T2) presentaron valores significativamente mayores de la concentración de  $N-NH_4^+$  que los controles (Figura 2.11).



**Figura 2.10.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de nitrógeno proteico en las hojas (izquierda) y los brotes del aguacate cv. 'Hass', en el período de inducción floral (T4) (arriba) y durante la maduración del fruto (T5). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).



**Figura 2.11.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de nitrógeno N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en las hojas (izquierda) y los brotes del aguacate cv. 'Hass', en el período de inducción floral (T4) (arriba) y durante la maduración del fruto (T5). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican ± ES. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).



**Figura 2.12.** Influencia del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de nitrógeno N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en las hojas (izquierda) y los brotes del aguacate cv. 'Hass', en el período de inducción floral (T4) (arriba) y durante la maduración del fruto (T5). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican ± ES. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

Para el caso de los iones nitrato, las hojas presentaron en T3 una correlación inversa con la intensidad de floración y una correlación directa en los brotes con el porcentaje de floración (Tabla 2.4). Además, presentaron mayores concentraciones en los tratamientos que produjeron una mayor floración, comparados con el control, en la época de inducción floral (T4), perdiéndose la significancia estadística en la etapa de maduración del fruto (T5) (Figura 2.12). En los brotes, solo el tratamiento On T2 mantuvo una diferencia estadística con el control en ambas fechas (T4 y T5), presentando mayores concentraciones en relación al control y las otras fechas de desfrute.

Las fracciones nitrogenadas también mostraron una relación con el contenido en clorofilas. Así, el N-proteico en hojas se correlacionó significativamente con el contenido en clorofilas durante las fechas T4 y T5 ( $R=0.99$ ;  $P \leq 0.001$  y  $R=0.92$ ,  $P \leq 0.1$ , respectivamente) (Tabla 2.5). El ión amonio también se mostró correlacionado, tanto en hojas como en brotes, pero sólo en la fecha T4 ( $R=0.94$ ;  $P \leq 0.1$  y  $R=0.98$ ;  $P \leq 0.05$ , respectivamente). Los iones nitrato, por su parte, sólo mostraron una correlación significativa en la fecha T3, con un  $R=0.99$  ( $P \leq 0.1$ ). Cabe señalar que, aun cuando no se alcanzó significancia estadística, las fechas a partir del final de la segunda caída fisiológica de frutos (T3) mostraron elevadas correlaciones entre los contenidos en clorofilas en las hojas y las concentraciones foliares de N-proteico, iones amonio e iones nitrato.

**Tabla 2.4.** Coeficientes de correlación (R) entre la concentración de nitrógeno proteico, N-amonio y N-nitratos en las hojas y los brotes del aguacate cv. 'Hass' en las fechas de desfrute T3 y T4, y en la fecha de evaluación T5, con el porcentaje e intensidad de la siguiente floración. Los asteriscos muestran significancia estadística.

| Fecha                   | Porcentaje de Floración | Intensidad de Floración | Porcentaje de Floración | Intensidad de Floración |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>N-proteico</b>       | Hojas                   |                         | Brotes                  |                         |
| T3                      | -0.90                   | -0.60                   | -0.89                   | -0.59                   |
| T4                      | -0.92 *                 | -0.79                   | 0.34                    | 0.43                    |
| T5                      | -0.92 *                 | -0.64                   | 0.29                    | 0.42                    |
|                         | Porcentaje de Floración | Intensidad de Floración | Porcentaje de Floración | Intensidad de Floración |
| <b>N-NH<sub>4</sub></b> | Hojas                   |                         | Brotes                  |                         |
| T3                      | -0.96                   | -0.98                   | 0.42                    | -0.04                   |
| T4                      | -0.75                   | -0.59                   | 0.88                    | 0.68                    |
| T5                      | -0.59                   | -0.66                   | 0.71                    | 0.70                    |
|                         | Porcentaje de Floración | Intensidad de Floración | Porcentaje de Floración | Intensidad de Floración |
| <b>N-NO<sub>3</sub></b> | Hojas                   |                         | Brotes                  |                         |
| T3                      | -0.93                   | -0.99 *                 | 0.99 **                 | 0.88                    |
| T4                      | 0.71                    | 0.82                    | 0.11                    | 0.06                    |
| T5                      | -0.40                   | -0.34                   | 0.09                    | 0.48                    |

\*  $P \leq 0.1$  \*\*  $P \leq 0.05$  \*\*\*  $P \leq 0.001$



**Tabla 2.5.** Coeficientes de correlación (R) entre la concentración de N-proteico, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en hojas y brotes del aguacate cv. 'Hass' evaluados en T3, T4 y T5 con el contenido de clorofilas totales. Los asteriscos muestran significancia estadística.

| Chl Totales | N-proteico Hojas                     | N-proteico Brotes                     |
|-------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| T3          | 0.84                                 | 0.84                                  |
| T4          | 0.99 ***                             | 0.05                                  |
| T5          | 0.92 *                               | -0.02                                 |
|             | N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> Hojas | N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> Brotes |
| T3          | 0.99                                 | -0.31                                 |
| T4          | 0.94 *                               | -0.98 **                              |
| T5          | 0.66                                 | -0.49                                 |
|             | N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> Hojas | N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> Brotes |
| T3          | 0.97                                 | -0.99 *                               |
| T4          | -0.85                                | -0.60                                 |
| T5          | 0.60                                 | -0.09                                 |

\*  $P \leq 0.1$  \*\*  $P \leq 0.05$  \*\*\*  $P \leq 0.001$



## CAPITULO 3



### ***Interrelación Floración – Fructificación – Floración en el Aguacate***



---

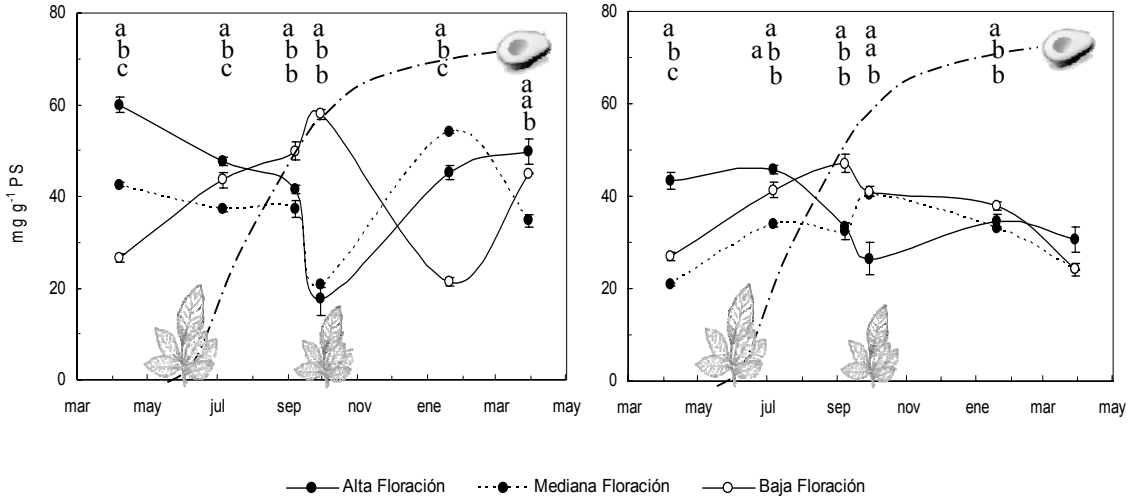
## Interrelaciones Floración – Fructificación – Floración en el Aguacate

### 3.1. Azúcares solubles

Durante el período de floración y primera brotación vegetativa, la presencia de flores, en los casos de intensidad de floración alta (AF) y media (MF), provocó un descenso gradual de la concentración de gluc-6-P en las hojas (Figura 3.1). Para la intensidad de floración baja (BF), por el contrario, la concentración de este azúcar se incrementó continuamente hasta el desarrollo de la segunda brotación. El comienzo de la segunda brotación incrementó significativamente las tendencias mencionadas en las tres intensidades de floración, alcanzando los tratamientos AF y MF los valores más bajos de todo el período estudiado, con concentraciones de 17,6 y 20,7 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente. La BF mostró en este punto su mayor concentración (57,9 mg g<sup>-1</sup> PS), pero a medida que se desarrolló la segunda brotación y avanzó el período invernal, se produjo un cambio en las tendencias, y las intensidades de floración AF y MF incrementaron marcadamente su concentración foliar de gluc-6-P, mientras que la BF la disminuyó y alcanzó su concentración más baja de todo el período de estudio, 21,4 mg g<sup>-1</sup> PS. Las diferencias entre intensidades de floración desaparecieron al llegar la madurez fisiológica del fruto y su recolección. De acuerdo con nuestros resultados, las dos intensidades extremas de floración, AF y BF, presentaron un comportamiento opuesto en la evolución de la concentración de gluc-6-P, pero terminando en el período de floración de la segunda temporada con concentraciones foliares de este azúcar muy semejantes.

En los brotes, la evolución de la concentración de gluc-6-P también presentó un comportamiento opuesto entre AF y BF, en particular durante el período de floración (43,4 y 27,0 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente) y durante el comienzo del segundo crecimiento vegetativo (33,4 y 47,1 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente). La MF presentó su menor concentración de gluc-6-P durante la floración de la primera temporada (26,7 mg g<sup>-1</sup> PS) y siguió una tendencia similar a la BF, con excepción del período comprendido entre brotaciones vegetativas, en el que disminuyó su concentración respecto de la BF.

Las concentraciones, al comienzo de la segunda temporada, fueron muy similares para las tres intensidades de floración (30,5; 24,1 y 24,2 mg g<sup>-1</sup> PS para AF, MF y BF, respectivamente) (Figura 3.1).

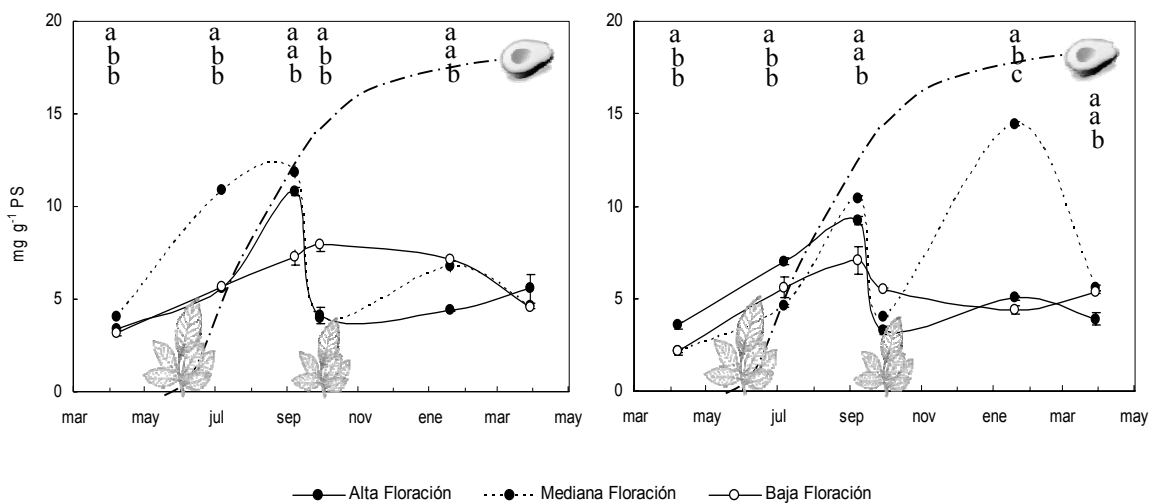


**Figura 3.1.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución de la concentración de gluc-6-P en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

La sacarosa (Figura 3.2), por otra parte, presentó en las hojas una evolución similar para la AF y MF, caracterizado por un incremento continuo de su concentración desde la floración hasta el comienzo del segundo crecimiento vegetativo, en el que experimentaron ambos tratamientos una disminución significativa (4,1 y 4,0 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente), y alcanzando valores similares a los observados durante el período de floración de la primera temporada. Cabe señalar que la MF mostró mayores concentraciones que la AF en la mayor parte del período evaluado, alcanzando la mayor concentración de las tres intensidades de floración justo antes del segundo crecimiento vegetativo (11,9 mg g<sup>-1</sup> PS). La BF tuvo un comportamiento estable, presentando un incremento moderado desde la floración hasta la segunda brotación vegetativa, para alcanzar posteriormente valores similares a las otras dos intensidades de floración

durante la floración de la segunda temporada (5,6; 4,6 y 4,5 mg g<sup>-1</sup> PS para AF, MF y BF, respectivamente).

En los brotes, el comportamiento de la sacarosa fue similar al observado en las hojas para las tres intensidades de floración, con excepción de la MF durante el período posterior a la segunda brotación vegetativa, en el que experimentó un fuerte incremento, alcanzando durante el período invernal y de madurez fisiológica del fruto un máximo de 14,5 mg g<sup>-1</sup> PS, la mayor concentración observada para todos los tratamientos evaluados. Nuevamente, durante la floración de la segunda temporada de crecimiento, las tres intensidades de floración presentaron valores similares en su concentración de sacarosa, siendo ésta, además, muy similar a la observada al comienzo de la primera temporada de crecimiento (Figura 3.2).

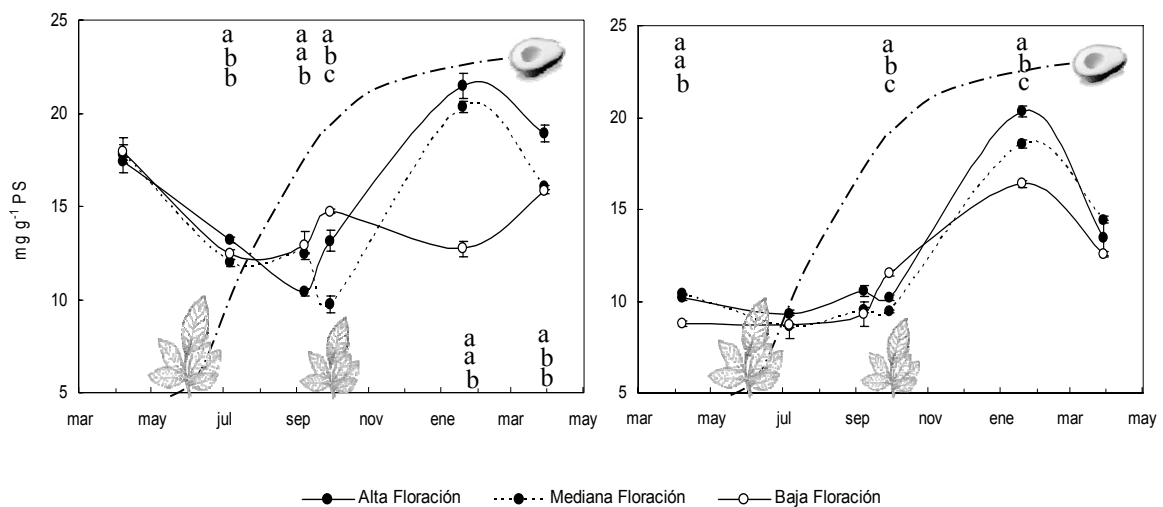


**Figura 3.2.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución en la concentración de sacarosa en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

La concentración de glucosa en las hojas mostró un comportamiento diferente en los árboles de BF respecto de los de AF y MF (Figura 3.3). Los de BF, su concentración foliar disminuyó continuamente hasta finalizado el primer crecimiento vegetativo, para dar paso a un breve incremento durante el segundo crecimiento vegetativo que

desapareció con el transcurso del período invernal. En los de AF, la concentración de glucosa disminuyó desde la floración hasta el comienzo del segundo crecimiento vegetativo, momento en el que se inició un fuerte incremento, alcanzando el máximo valor de los tres tratamientos (21,5 mg g<sup>-1</sup> PS) durante el período de maduración del fruto, en pleno período invernal. En los de MF, la evolución de la concentración foliar de glucosa fue muy similar a los de AF, aunque levemente inferior a partir del segundo crecimiento vegetativo.

En los brotes, el comportamiento de las tres intensidades de floración fue muy similar hasta el período invernal (enero), en el que se apreció una estricta correspondencia entre la intensidad de floración y la concentración de glucosa (Figura 3.3). En esta fecha, además, se alcanzaron las mayores concentraciones de todo el período en estudio (20,3; 18,5 y 16,4 mg g<sup>-1</sup> PS para la AF, MF y BF, respectivamente). Llegado el período de floración, las diferencias se perdieron, disminuyendo la concentración en todos los tratamientos.



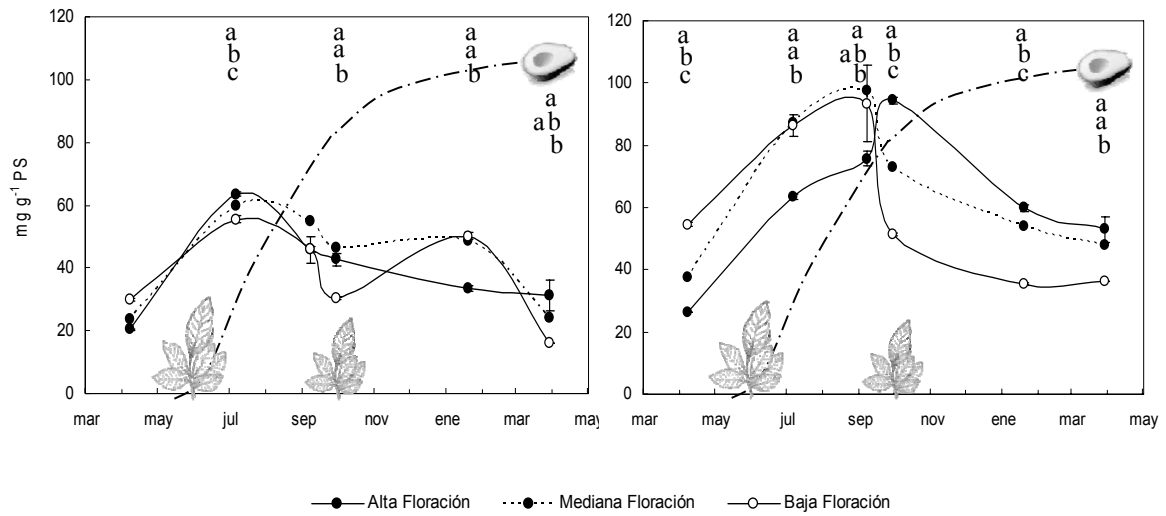
**Figura 3.3.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución en la concentración de glucosa en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.



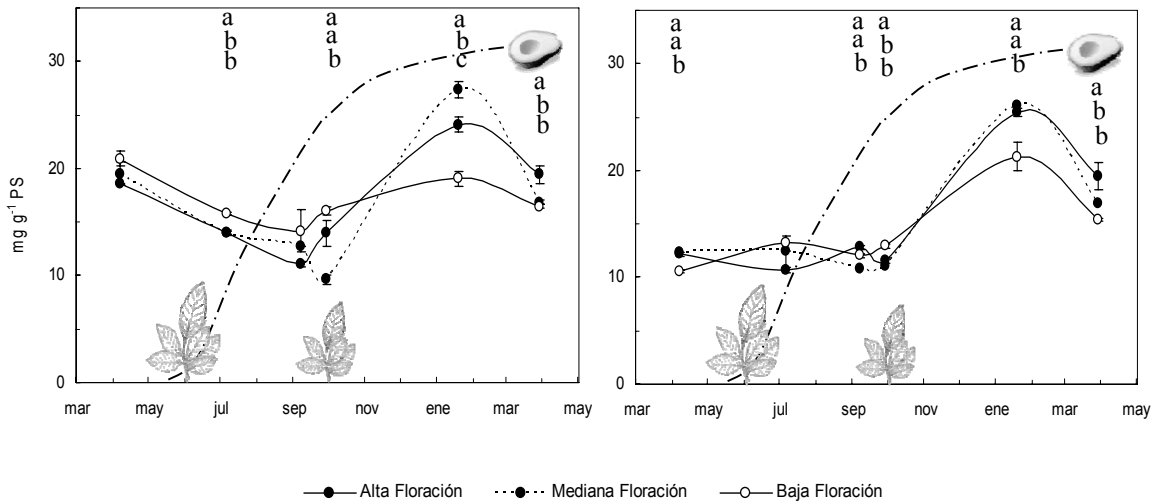
La manoheptulosa, en general, fue el azúcar predominante en hojas y brotes (Figura 3.4), con concentraciones que oscilaron entre 20,4 y 63,5 mg g<sup>-1</sup> PS en hojas y 26,2 y 97,4 mg g<sup>-1</sup> PS en brotes. En las hojas no se observaron diferencias significativas hasta el segundo crecimiento vegetativo, período en el cual los árboles de BF disminuyeron su concentración foliar comparada con la de los árboles de AF y MF. Sin embargo, con el transcurso del invierno y llegado el mes de enero, los de BF experimentaron un incremento que situó la concentración foliar en niveles iguales a los de MF, siendo ambas significativamente mayores que la de los AF. Los árboles de AF, por su parte, mostraron un continuo descenso de la concentración foliar de manoheptulosa desde la primera brotación vegetativa hasta la floración siguiente (Figura 3.4).

En los brotes, la manoheptulosa mostró valores moderadamente mayores que en las hojas (Figura 3.4), en particular durante el periodo entre la primera y la segunda brotación vegetativa. Se distinguieron dos períodos basados en la tendencia de las concentraciones de este azúcar: un primer período, caracterizado por un incremento constante de la manoheptulosa en las tres intensidades de floración, que comprendió desde floración hasta el comienzo del segundo crecimiento vegetativo, finalizando los árboles de MF y BF con las mayores concentraciones de todo el período de evaluación (97,4 y 93,3 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente), y un segundo período, con un cambio abrupto en las concentraciones de los tres tratamientos y con una tendencia decreciente, y en el que los árboles de AF y MF presentaron mayores concentraciones de manoheptulosa que los de BF, comportamiento que se mantuvo hasta la siguiente floración.

Al analizar la sedoheptulosa (que incluye la fructosa por limitaciones en la separación cromatográfica), se pudo observar una tendencia similar en las hojas y los brotes (Figura 3.5). Su concentración descendió desde la floración hasta el segundo crecimiento vegetativo, y a éste le siguió un incremento que alcanzó su punto máximo en el período invernal (enero), siendo los árboles de AF y MF los que presentaron las mayores concentraciones de este azúcar (24,1 y 27,4 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente, en las hojas y 25,4 y 26,1 mg g<sup>-1</sup> PS, respectivamente, en los brotes), valores que fueron en ambos órganos los mayores de todo el período de evaluación y significativamente diferentes a los de los árboles de BF (19,0 mg g<sup>-1</sup> PS en las hojas y 21,3 mg g<sup>-1</sup> PS en los brotes). En las hojas, los valores observados en los dos períodos de floración fueron similares, a diferencia de los brotes, en los que los valores en floración de la primera temporada fueron inferiores a los alcanzados en el mismo período de la segunda.



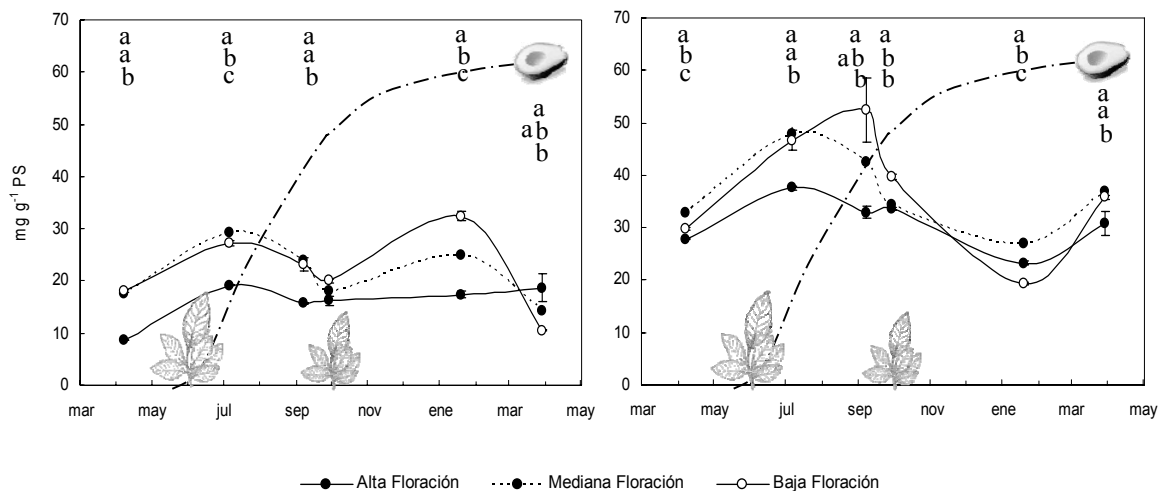
**Figura 3.4.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución en la concentración de manoheptulosa en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.



**Figura 3.5.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución en la concentración de sedoheptulosa + fructosa en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

En las hojas, los árboles de AF presentaron concentraciones relativamente estables de perseitol durante todo el período evaluado, siendo, en general, la intensidad de floración que presentó la menor concentración foliar de este azúcar. Los árboles de MF y AF presentaron un comportamiento similar, con dos incrementos en su concentración de perseitol, el primero desde la floración hasta finalizado el primer crecimiento vegetativo, y el segundo desde el segundo crecimiento vegetativo hasta enero. Fue en este segundo en el que se apreciaron más claramente diferencias significativas entre las tres intensidades de floración, siendo la BF la que presentó la mayor concentración foliar, seguida de la MF y la AF (Figura 3.6).

En los brotes, se produjo un incremento similar al observado en las hojas durante el período de floración y primera brotación vegetativa, siendo más pronunciado para la intensidad BF de floración. No obstante, a partir de la segunda brotación vegetativa, los tratamientos experimentaron un descenso en las concentraciones de perseitol, alcanzando los mínimos valores en enero. Este comportamiento fue el opuesto al observado para el mismo período en las hojas. Debe destacarse que es en los brotes, durante el período comprendido desde floración y hasta la segunda brotación vegetativa, cuando se encuentran las mayores concentraciones de perseitol, y que este período es coincidente, fenológicamente, con el final de la segunda caída fisiológica de frutos.



**Figura 3.6.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución en la concentración de perseitol en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

### **3.2. Azúcares insolubles**

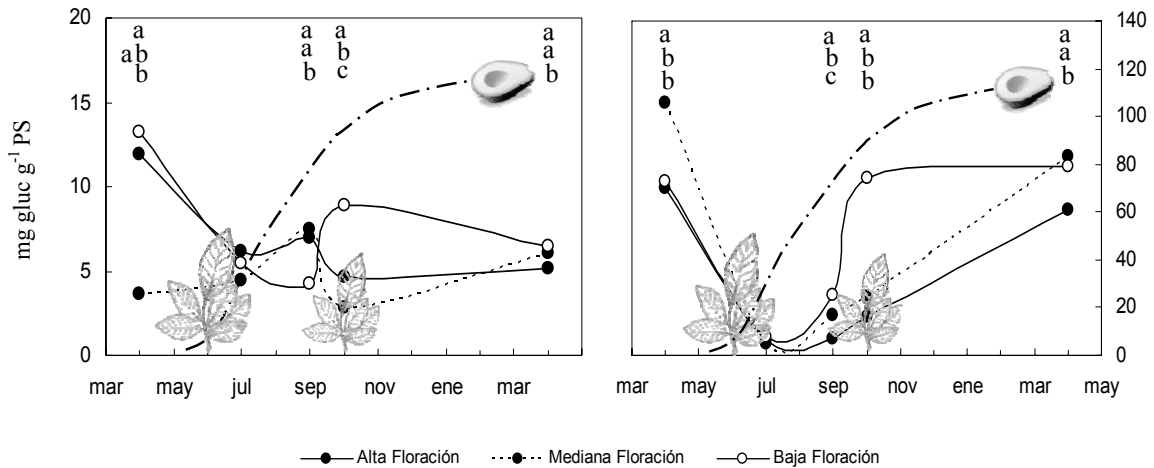
El almidón, en las hojas (Figura 3.7), presentó concentraciones muy bajas en comparación con las encontradas en los brotes. Durante la floración del primer año de estudio las concentraciones en los árboles de BF y AF fueron mayores que las de los MF, igualándose los niveles de las tres intensidades hacia el final de la primera brotación vegetativa. Más tarde, durante el período previo a la segunda brotación vegetativa, los árboles de AF y MF incrementaron su concentración foliar de almidón, a diferencia de los de BF que la disminuyeron. La segunda brotación trajo consigo un cambio en las tendencias, y los árboles de BF incrementaron notablemente su concentración foliar de almidón en comparación con los árboles de AF y MF, en los que disminuyó. Con el transcurso del período invernal, estas diferencias se perdieron, alcanzando todas las intensidades de floración concentraciones similares durante la floración del segundo año de estudio (Figura 3.7).

La concentración de almidón en los brotes durante el período de floración del primer año de estudio experimentó una disminución abrupta, con independencia de la intensidad de floración, alcanzando los valores mínimos al finalizar la primera brotación vegetativa. El período previo a la segunda brotación vegetativa resultó en una recuperación gradual de la concentración de almidón hasta el período de floración del segundo año de estudio para los tratamientos de intensidad de floración AF y MF; en el caso de los árboles de BF el desarrollo de la segunda brotación trajo consigo un fuerte incremento de la concentración de almidón en los brotes, alcanzando el valor mayor de todo el período de estudio y manteniéndose constante hasta el período de floración del segundo año de estudio, momento en el que se igualó con las concentraciones de las otras dos intensidades de floración.

### **3.3. Fracciones nitrogenadas**

La concentración foliar del ión amonio se mantuvo en niveles estables desde la floración hasta la segunda brotación vegetativa, momento en el que los árboles de MF incrementaron su concentración foliar respecto de las otras dos intensidades de floración (Figura 3.8). No obstante, cuando el fruto alcanzó la madurez fisiológica durante el período invernal, se produjo un incremento de la concentración de iones amonio en los

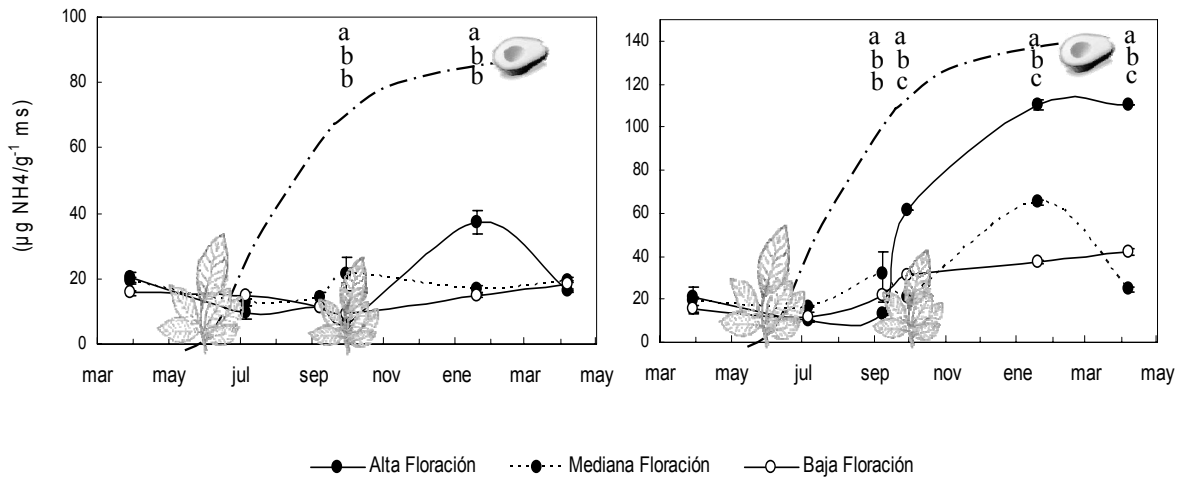
árboles de AF respecto de las otras dos intensidades de floración; este aumento desapareció con el tiempo. Cabe destacar, la igualdad de la concentración foliar de iones amonio en el período de floración de los dos años de estudio. En general, las concentraciones de iones amonio en las hojas fueron menores que las encontradas en los brotes, particularmente entre la segunda brotación vegetativa y el período de floración.



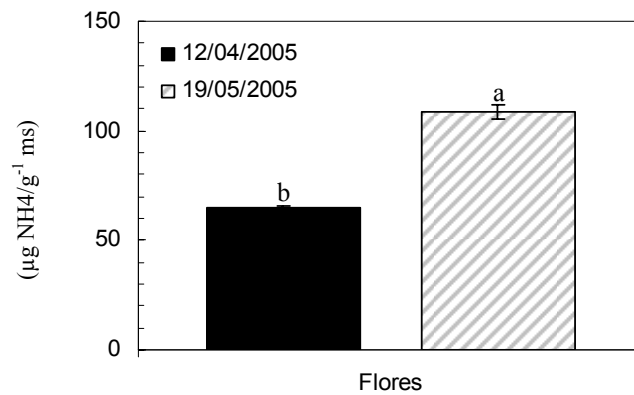
**Figura 3.7.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución en la concentración de almidón en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. Valores expresados como glucosa equivalente liberada en la reacción con amiloglucosidasa. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

En los brotes (Fig.3.8), la concentración de iones amonio fue similar a la observada en las hojas hasta el final de la segunda caída de fruta y comienzo de la segunda brotación vegetativa. En los árboles de AF, el desarrollo de la segunda brotación vegetativa produjo un incremento considerable en la concentración de iones amonio, alcanzando los niveles más altos de todo el período de evaluación en el momento de la floración del segundo año de estudio. En los árboles de MF también se observó un incremento con el desarrollo de la segunda brotación vegetativa, pero de menor magnitud, que se perdió con la llegada a la floración siguiente.

Al analizar la concentración de iones amonio en las estructuras florales en dos fechas durante el período de floración, se pudo observar un incremento de la misma a lo largo del tiempo (Figura 3.9). Destaca la mayor concentración de iones amonio obtenida en las flores respecto de las encontradas en las hojas (ver Figura 3.8) y los brotes durante este período. Las flores presentaron concentraciones, aproximadamente, 2,5 y 5 veces superiores a las observadas en los otros órganos, con independencia de la fecha.



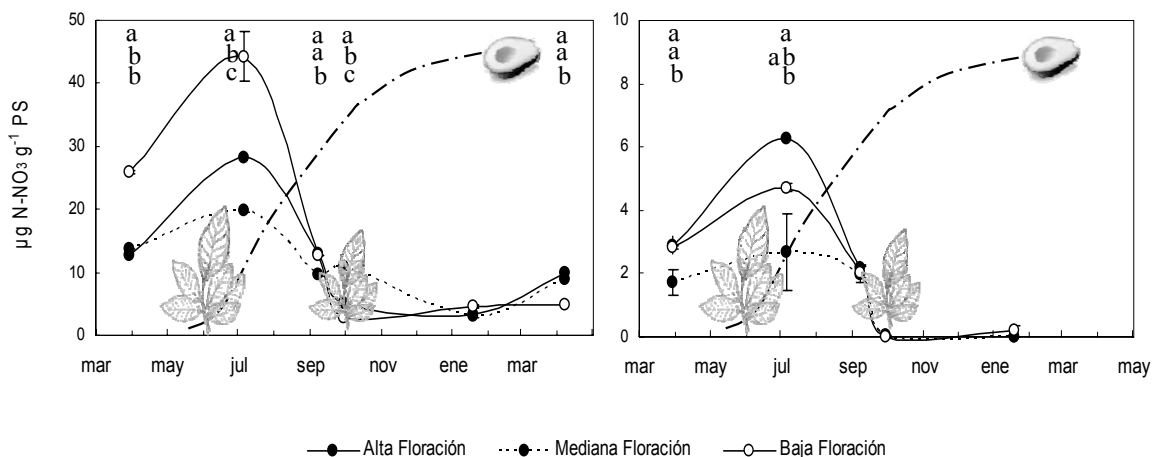
**Figura 3.8.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución en la concentración de iones amonio ( $N-NH_4^+$ ) en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.



**Figura 3.9.** Evolución de la concentración de iones amonio en las flores de aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES.

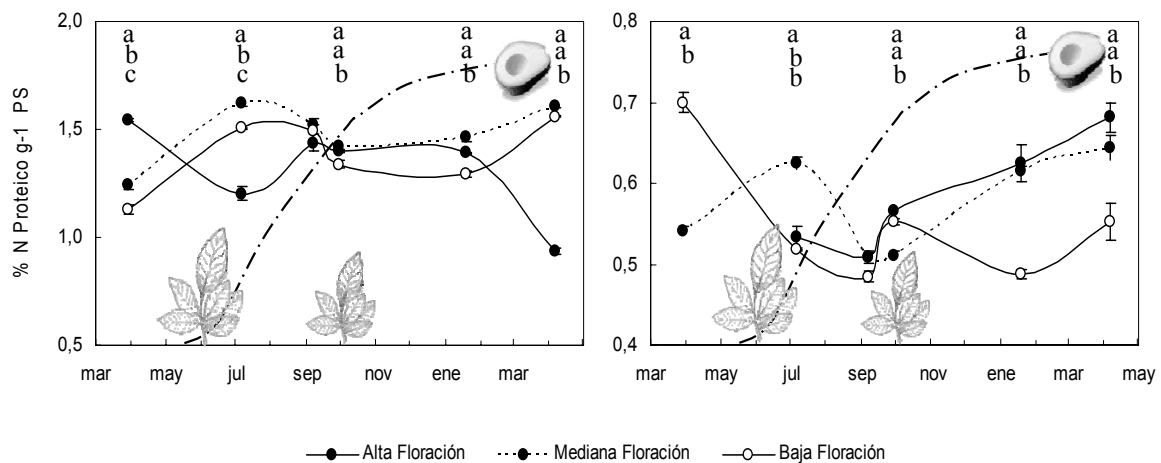
Los iones nitrato, por su parte, mostraron un comportamiento marcadamente estacional. En las hojas, la floración de la primera temporada presentó una diferencia significativa entre la concentración de iones nitrato de los árboles de BF y las otras dos intensidades de floración (Fig.3.10). Con el transcurso de la floración y la primera brotación vegetativa, se produjo un incremento considerable de las concentraciones de iones nitrato y de las diferencias entre tratamientos, alcanzándose las mayores concentraciones al finalizar la primera brotación vegetativa. A partir del término de ésta, la concentración de iones nitrato experimentó un descenso significativo en todos los tratamientos, de modo que a partir de la segunda brotación y hasta la maduración del fruto, las concentraciones de iones nitrato se mantuvieron muy bajas, no presentando una clara diferencia y tendencia entre los tratamientos (Figura 3.9).

En los brotes, se observaron niveles muy bajos de iones nitrato respecto de los observados en las hojas (Figura 3.10). Sin embargo, el comportamiento estacional fue similar. Las mayores concentraciones se encontraron entre el período de floración y el comienzo de la segunda brotación vegetativa, para luego caer a niveles casi imperceptibles durante el período de la segunda brotación y el período invernal. Las diferencias significativas entre tratamientos se presentaron desde floración hasta el final de la primera brotación vegetativa, siendo los árboles de AF y BF los que tuvieron las mayores concentraciones de iones nitrato respecto de los de BF.



**Figura 3.10.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución en la concentración de iones nitrato ( $N-NO_3^-$ ) en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

El nitrógeno proteico (Figura 3.11), por su parte, presentó dos períodos en los que los tratamientos difirieron significativamente entre sí. El primero correspondió a la floración, y el segundo al final de la primera brotación vegetativa. Durante el primero, los árboles de AF presentaron la mayor concentración foliar de nitrógeno proteico. El desarrollo de la floración y de la primera brotación vegetativa condujo a un descenso de la concentración para la mayor intensidad de floración y un incremento en las otras dos intensidades. La floración del segundo año de estudio presentó un comportamiento opuesto, es decir, la intensidad de floración que floreció más la temporada anterior (AF) presentó la menor concentración de nitrógeno proteico. En los brotes, la concentración de nitrógeno proteico fue prácticamente la mitad que las de las hojas, sin una clara tendencia entre tratamientos. (Figura 3.11)



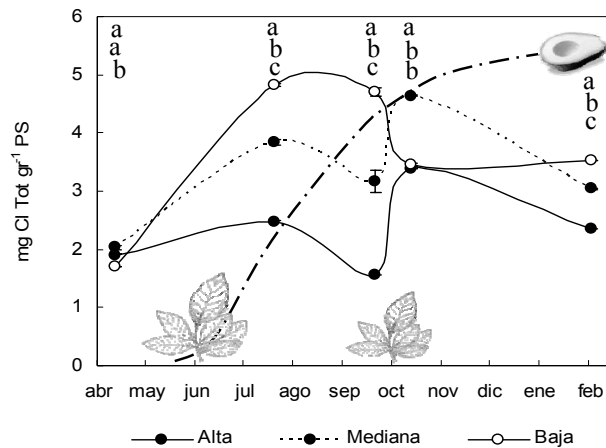
**Figura 3.11.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución en la concentración de nitrógeno proteico (N-Proteico) en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

### 3.4. Clorofilas Totales

La evolución de la concentración de clorofilas totales de las hojas (Figura 3.12), estuvo marcadamente influida por la intensidad de floración desde el momento de la floración hasta la segunda brotación vegetativa. En dicho período, todos los tratamientos experimentaron un incremento inversamente proporcional al número de



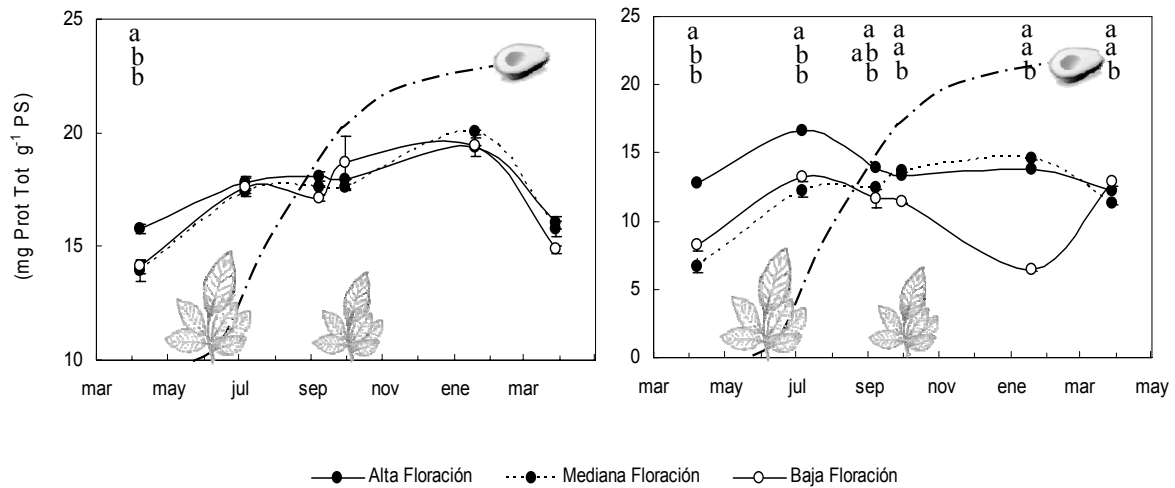
flores y frutos en desarrollo. Con el avance hacia la segunda brotación vegetativa, los tratamientos MF y AF (con fruto) presentaron una disminución en sus contenidos de clorofila. El desarrollo de la segunda brotación produjo un efecto compensatorio de los contenidos de clorofila entre los tratamientos sin flores ni fruto (BF) y el de mayor intensidad de floración y con fruto (AF). A partir de esta segunda brotación, las concentraciones de las tres intensidades de floración tendieron a equilibrarse.



**Figura 3.12** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución en la concentración de clorofilas totales en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

### 3.5. Proteínas totales solubles

No se apreció una clara diferencia atribuible a la intensidad de floración en la concentración de proteínas totales solubles en las hojas (Figura 3.13). Fue evidente, sin embargo, y en general, una mayor concentración en los brotes provenientes de árboles con mayor floración. En particular, a partir de la segunda brotación vegetativa, los árboles de BF (sin fruto) mostraron una disminución significativa en su concentración de proteínas totales solubles, mientras que los otros dos tratamientos (con fruto) la mantuvieron prácticamente constante.



**Figura 3.13.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la evolución en la concentración de proteínas totales solubles en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

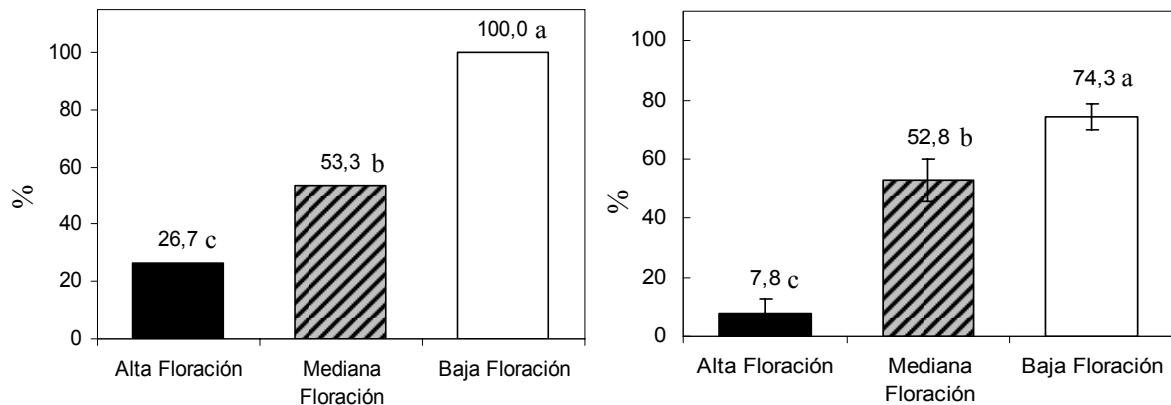
### 3.6. Crecimiento vegetativo y reproductivo

La brotación y floración se vieron marcadamente influidos por la intensidad de floración previa. Así, en los árboles de BF todas las panículas brotaron (100 %) y, además, no desarrollaron flores (Figura 3.14), mientras que en los árboles de AF sólo el 26% dieron brotes vegetativos, situándose los árboles MF en una posición intermedia (53% de brotación) (Figura 3.15). Durante la floración del segundo año de estudio, la brotación vegetativa se vio aún más disminuida en el tratamiento AF, llegando a brotar tan sólo un 7,8% de las panículas florales. Los árboles de BF también vieron disminuida la brotación de sus panículas en este segundo año (74%), pero siguieron siendo los de valores más elevados. Los árboles de MF mantuvieron también este año una brotación intermedia (Figura 3.15). En el segundo año de estudio, los árboles de AF y MF presentaron una tendencia similar respecto del % de floración (Figura 3.16), presentando ambas intensidades un 100% de floración. Sin embargo, la intensidad de floración no fue la misma, presentando los árboles de AF el menor número de flores por panícula, seguidos por los de MF y BF (datos no presentados).

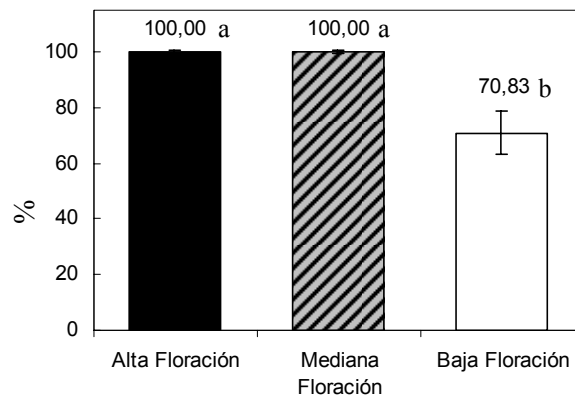


**Figura 3.14.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la brotación de la segunda temporada del aguacate cv. 'Hass'. Parte superior izquierda: árbol de AF con ausencia total de brotación vegetativa. Parte superior derecha: brote de árbol de MF con la presencia de un brote vegetativo terminal. Parte inferior izquierda: brote de árbol de BF con la presencia de un nuevo brote vegetativo, con ausencia de floración. Parte inferior derecha: brote de árbol de AF con la presencia de una panícula floral determinada, sin brotación vegetativa.

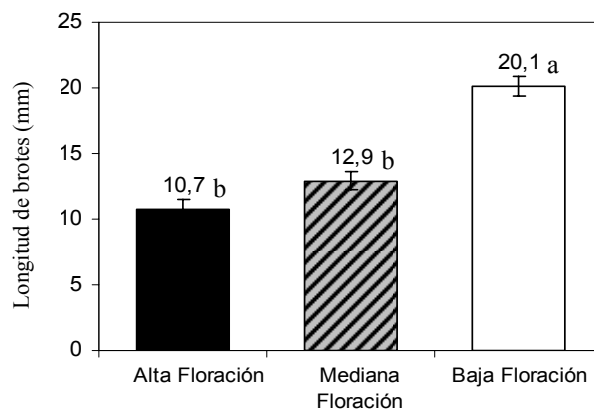
La intensidad de floración también afectó la longitud de los brotes (Figura 3.17). Así, los brotes de los árboles de AF (con mayor número de frutos) presentaron la menor longitud, seguidos de los brotes de los árboles de MF y estos, a su vez, por los de los árboles de BF, con una longitud casi el doble que los de AF (20,1 mm y 10,7 mm, respectivamente). Por otra parte, la intensidad de floración también afectó la cantidad de frutos que superó las dos caídas fisiológicas (Figura 3.18). La AF favoreció la presencia exclusiva de 1 fruto por panícula floral, mientras que la MF mostró panículas de dos tipos: con 1 fruto, predominantes (66,7%), y de dos frutos (33,3%). Finalmente, se detectó un efecto de la intensidad de floración sobre el tamaño del fruto. Los frutos de los árboles de AF tenían un diámetro ecuatorial medio significativamente inferior al de los frutos de las otras dos intensidades de floración, que no se diferenciaron significativamente entre sí (47,62 mm en comparación con 57,35 y 57,99 mm para MF y BF, respectivamente). Es de destacar la escasa presencia de frutos en los árboles de BF.



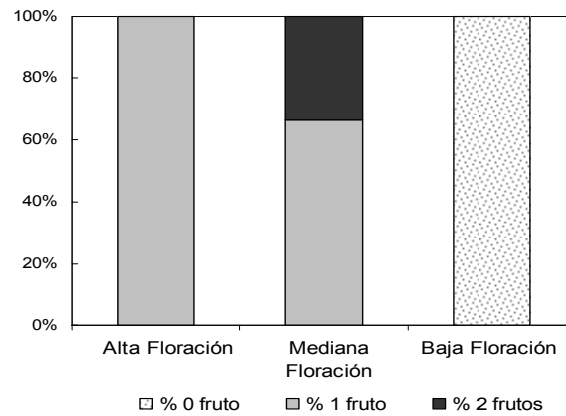
**Figura 3.15.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre los porcentajes de brotación (% de panículas florales que presentaron brote) del primero (evaluados en noviembre de 2005) (izquierda) y segundo año de estudio (evaluados en mayo de 2006) (derecha) del aguacate cv. 'Hass'. Los valores sobre las columnas corresponden al porcentaje obtenido a partir de la media de 30 mediciones.



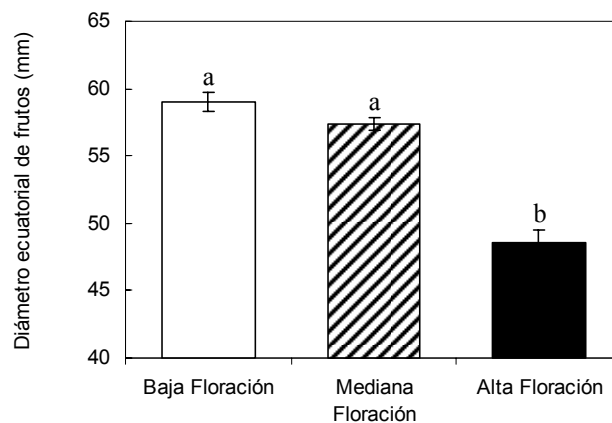
**Figura 3.16.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre los porcentajes de floración (% de brotes con panículas florales respecto del total de brotes) en el segundo año de estudio (evaluados en mayo de 2006) del aguacate cv. 'Hass'. Los valores sobre las columnas corresponden al porcentaje obtenido a partir de la media de 30 mediciones.



**Figura 3.17.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre la longitud de los brotes del aguacate cv. 'Hass'. Los valores sobre las columnas corresponden al porcentaje obtenido a partir de la media de 20 mediciones. Valores correspondientes a noviembre de 2005.



**Figura 3.18.** Efecto de la intensidad de floración (alta, media y baja) sobre el número de frutos que presentaron los brotes florales, tras las dos caídas fisiológicas de frutos del aguacate cv. 'Hass'. Los valores corresponden al porcentaje obtenido a partir de la media de 20 mediciones. Valores correspondientes a noviembre de 2005.



**Figura 3.19.** Influencia de la intensidad de floración sobre el diámetro ecuatorial medio (mm) del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 20 mediciones. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Fecha de evaluación: noviembre de 2005.

## CAPITULO 4



### ***Efecto de Diferentes Niveles de Radiación sobre la Floración del Aguacate***

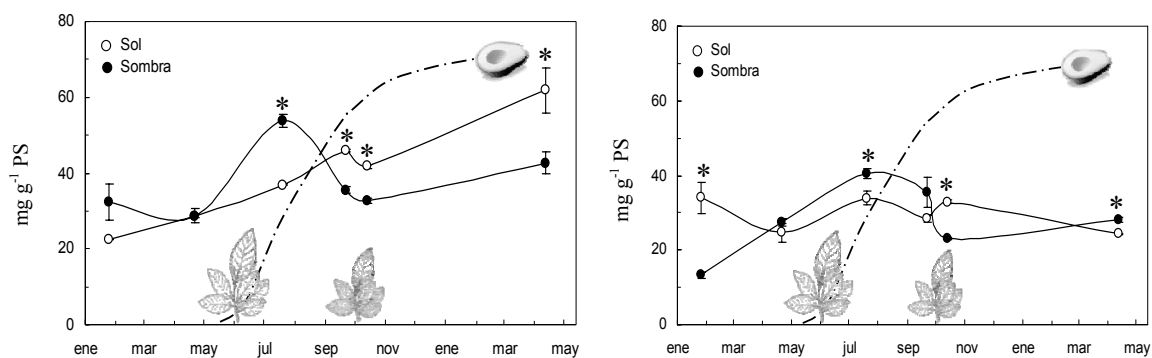




## Efecto de Diferentes Niveles de Radiación sobre la Floración del Aguacate.

### 4.1. Azúcares solubles

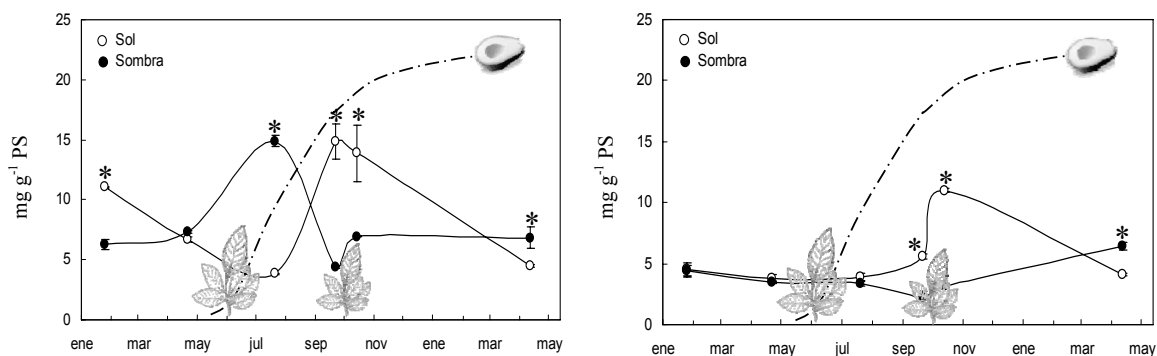
La gluc-6-P en las hojas presentó una tendencia al incremento con la iluminación, mientras que las sombreadas presentaron una disminución previa al período de floración y brotación vegetativa (Figura 4.1). Por otra parte, los brotes sombreados, a partir de la segunda brotación vegetativa, presentaron menores contenidos de gluc-6-P que los iluminados. La gluc-6-P tendió a aumentar en los brotes iluminados con cada brotación, mientras que en los sombreados sólo ocurrió en la primera brotación. Cabe destacar que para ambos casos, brotes iluminados y sombreados, los niveles de gluc-6-P detectados fueron muy superiores a los de los otros azúcares solubles analizados, siendo sólo comparables a los de la manoheptulosa y, en menor grado, a los del perseitol (ver Figura 4.4 y 4.6).



**Figura 4.1.** Contenido de gluc-6-P en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

Para el caso de la sacarosa, en las hojas se apreció un comportamiento opuesto entre sol y sombra. Cuando los primeros aumentaban su concentración, los segundos la

disminuían, y viceversa. En las hojas sombreadas (Figura 4.2), fue apreciable un incremento de las concentraciones de sacarosa con el transcurso de cada brotación vegetativa, mucho más importante en la primera, mientras que en las hojas iluminadas, sólo se pudo apreciar una acumulación de este azúcar en pleno verano, entre las dos brotaciones vegetativas. En los brotes, los niveles en ambos tratamientos fueron similares hasta la segunda brotación vegetativa, momento en el que el contenido de sacarosa de los brotes iluminados se incrementó significativamente respecto al de los brotes sombreados, situación que tendió a equilibrarse con el transcurso del tiempo, hasta llegar al siguiente período de floración.

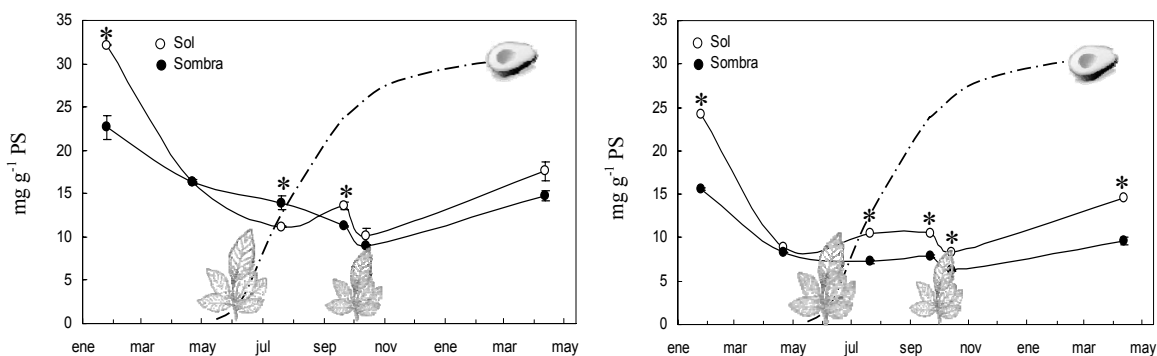


**Figura 4.2.** Contenido de sacarosa en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

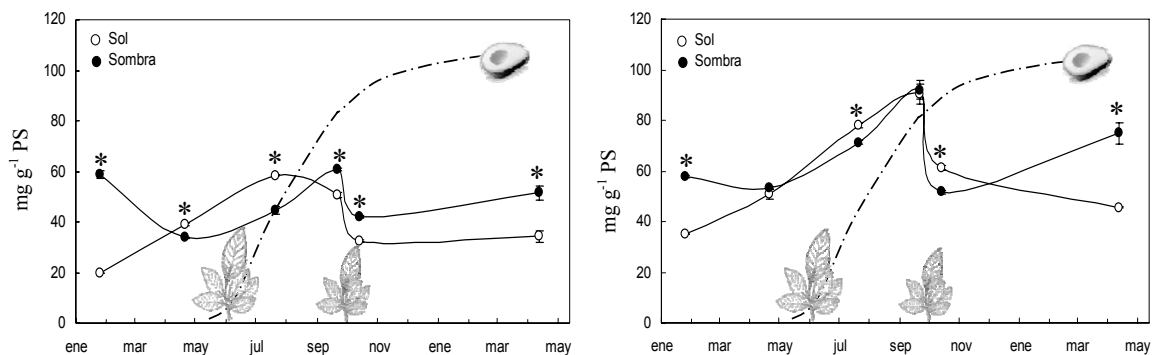
La glucosa, en ambos órganos, mostró una tendencia similar. Los mayores niveles de glucosa se encontraron previos al período de floración y primera brotación vegetativa, siendo las hojas y los brotes iluminados los que presentaron las mayores concentraciones. Al desarrollarse la floración y la primera brotación vegetativa, las hojas y los brotes iluminados continuaron disminuyendo su contenido en glucosa, presentando una recuperación durante el período entre brotaciones, para disminuir nuevamente durante el segundo período de brotación. Los brotes iluminados presentaron siempre niveles significativamente mayores de glucosa en el período entre los dos crecimientos vegetativos. Tras el segundo período de brotación vegetativa,

ambos tipos de órganos, hojas y brotes, mantuvieron mayores niveles de glucosa en los brotes iluminados. (Figura 4.3).

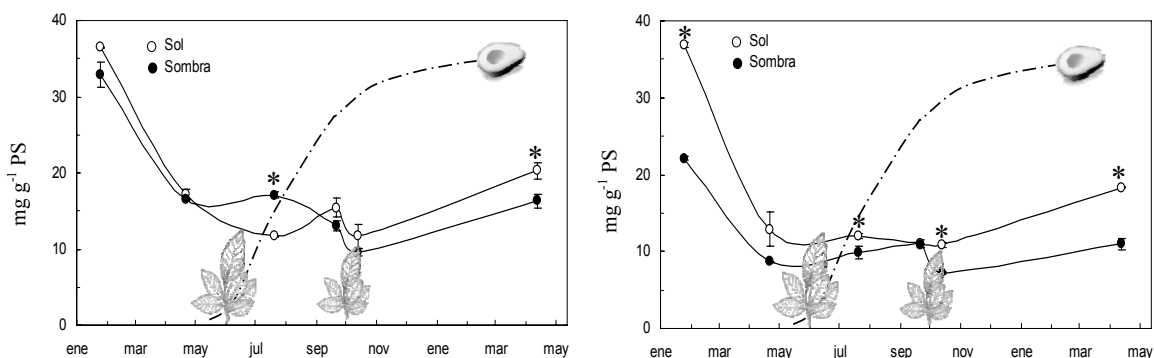
La manoheptulosa en las hojas mostró una dinámica similar a la glucosa, aunque con tendencia opuesta respecto de las condiciones de iluminación y sombreado. Las hojas sombreadas presentaron mayores concentraciones que las situadas a la luz, desde la segunda brotación vegetativa hasta el período previo a la floración. Con la primera brotación vegetativa se inició un incremento en las concentraciones de manoheptulosa, en las hojas y los brotes, que cayó abruptamente con el inicio de la segunda brotación vegetativa. Los brotes mostraron diferencias significativas sólo durante el período final de crecimiento, es decir, entre la segunda brotación vegetativa y el siguiente período de floración y brotación, siendo nuevamente los brotes sombreados los que presentaron los mayores niveles de manoheptulosa. Tomando en cuenta la magnitud de las concentraciones de manoheptulosa, destaca las mayores concentraciones encontradas en los brotes en comparación con las hojas (casi el doble), en especial en el período que continuó a la primera brotación, en el que se alcanzó la máxima concentración para ambos tipos de brotes, los iluminados y los sombreados (Figura 4.4).



**Figura 4.3.** Contenido de glucosa en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.



**Figura 4.4.** Contenido de manoheptulosa en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

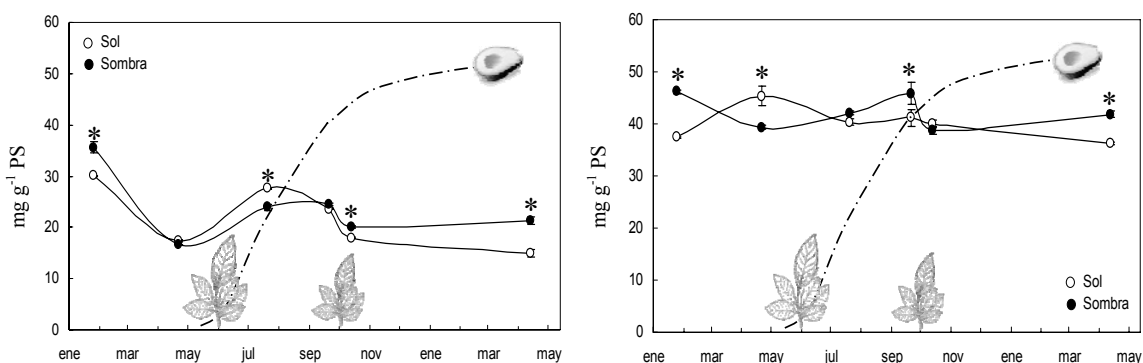


**Figura 4.5.** Contenido de sedoheptulosa en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

El comportamiento de la sedoheptulosa fue muy similar al de la glucosa, tanto en las tendencias observadas para ambos órganos durante la temporada de crecimiento, como en las magnitudes de las concentraciones (Figura 4.5). Cabe señalar que no fue posible separar cromatográficamente la sedoheptulosa (C7) de la fructosa (C6) bajo nuestras condiciones de ensayo.

Previo al proceso de floración y primera brotación vegetativa se evidenció en las hojas una disminución marcada de las concentraciones del azúcar de transporte perseitol, que se repitió durante el desarrollo de la segunda brotación vegetativa. Sin

embargo, es durante el desarrollo de la primera cuando se pudo apreciar un incremento en los contenidos de perseitol (Figura 4.6). En los brotes, la situación no fue clara, aun cuando se observó que las concentraciones de perseitol fueron mayores que las observadas en las hojas. En ambos tipos de órganos no se pudo atribuir diferencias claras entre los órganos iluminados y los sombreados respecto de los contenidos de perseitol. Tan solo durante el período invernal hasta antes de la floración y brotación, se apreció que las hojas y los brotes sombreados mostraron mayores concentraciones de perseitol en comparación con los iluminados (Figura 4.6).

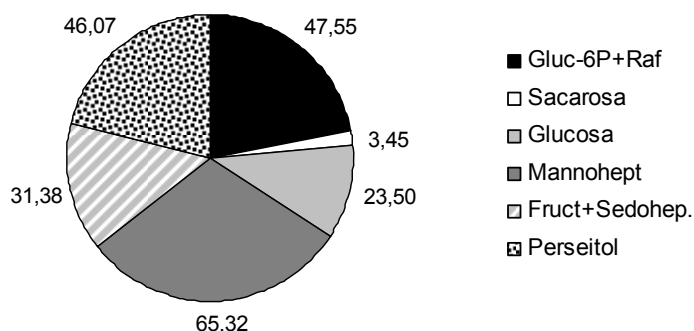


**Figura 4.6.** Contenido de perseitol en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

Al analizar el contenido de azúcares solubles en el tejido floral (Figura 4.7), destacó la mayor concentración de azúcares C7, correspondiendo a la manoheptulosa y al perseitol los mayores niveles (30% y 21%, respectivamente, respecto del total de azúcares solubles). La gluc-6-P fue el único azúcar C6 de relevancia en el tejido floral, con un 22% del total de azúcares solubles.

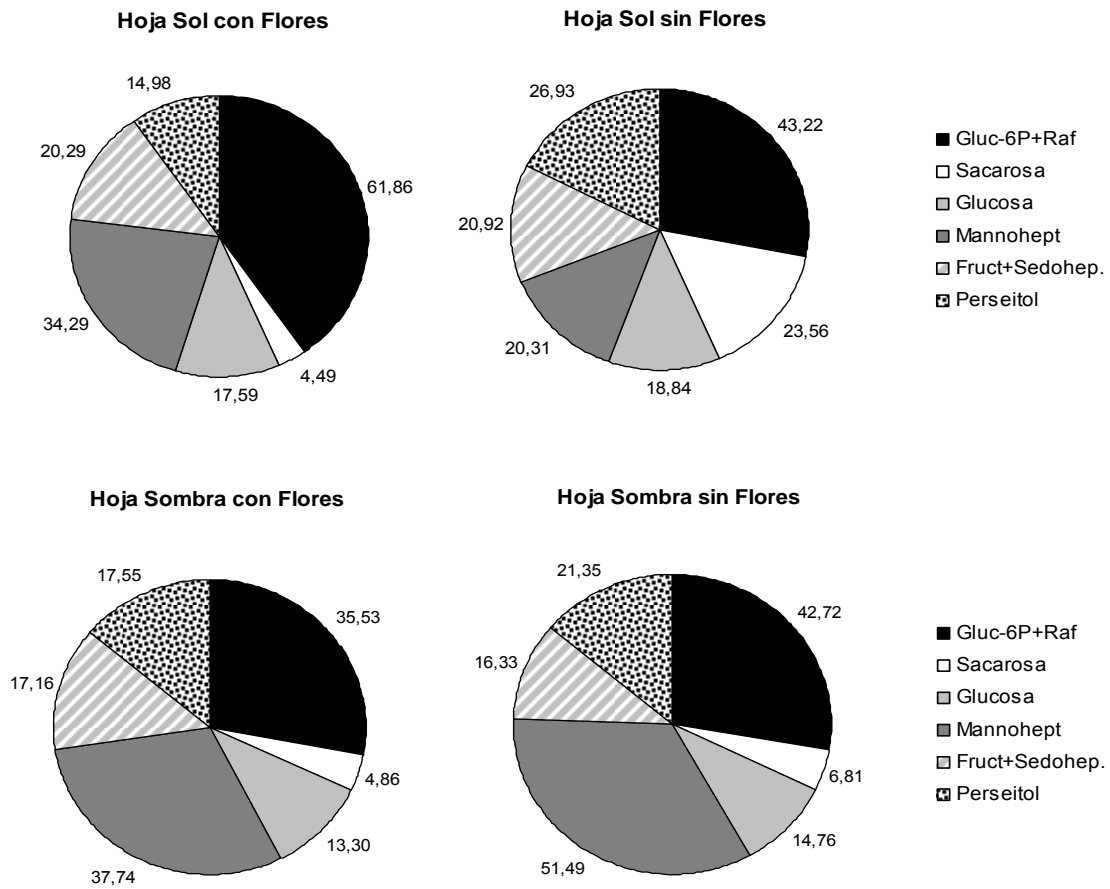
Al comparar, por otra parte, las hojas iluminadas con las sombreadas en época de floración, se apreció la influencia de la radiación solar sobre la concentración de gluc-6-P, incrementándola, y sobre la de manoheptulosa y perseitol, disminuyéndolas. La presencia de flores en los brotes con hojas sombreadas no alteró significativamente la

composición y distribución de los azúcares solubles. Sin embargo, en las hojas iluminadas, la presencia de flores incrementó la concentración de gluc-6-P y manoheptulosa, y disminuyó la de sacarosa y perseitol, respecto de las hojas de los brotes iluminados sin flores (Figura 4.8).

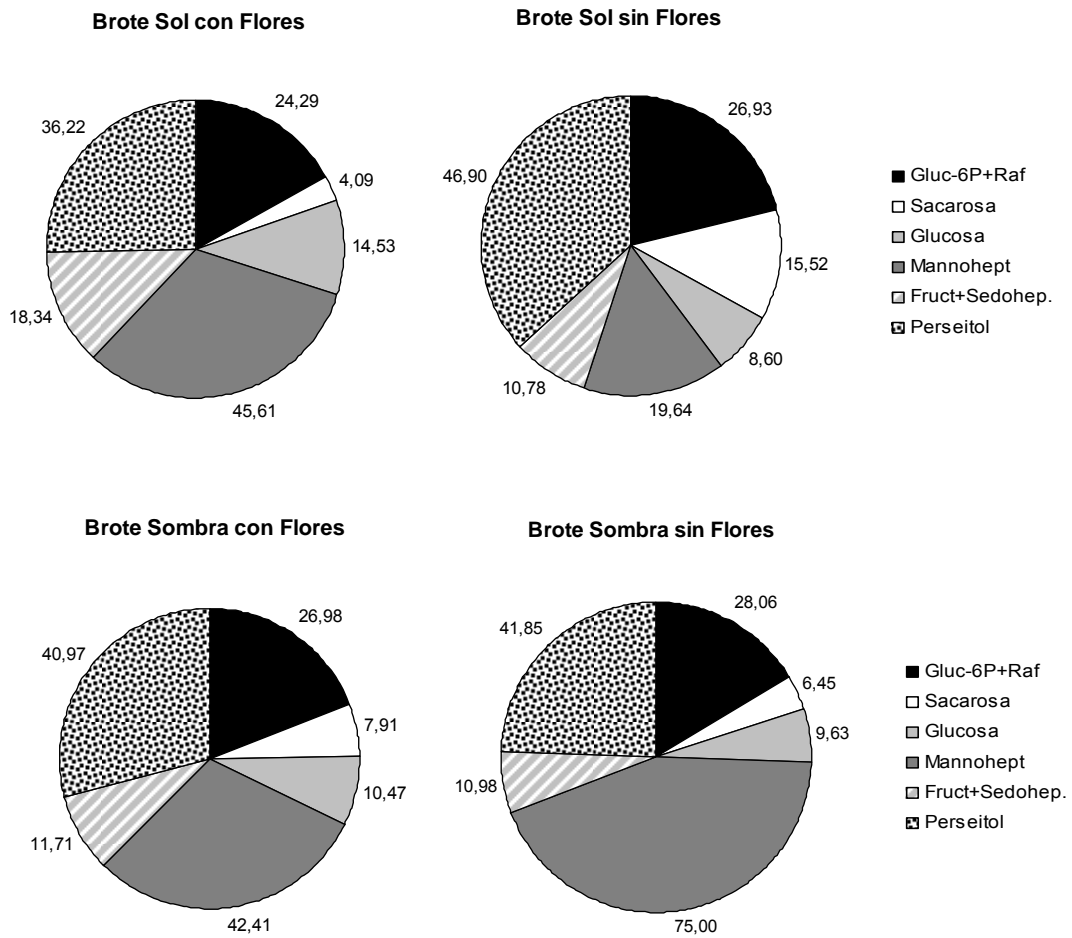


**Figura 4.7.** Contenido de azúcares solubles (mg g<sup>-1</sup> PS) en las flores del aguacate cv. 'Hass'. Valores correspondientes a abril de 2005. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas.

En los brotes con flores, por su parte, la radiación no afectó de manera significativa la proporción de azúcares solubles, pero sí resultó un factor importante la presencia o ausencia de flores. Los brotes iluminados sin flores presentaron un incremento significativo de la concentración de perseitol y un descenso del de manoheptulosa. Por otra parte, los brotes sombreados sin flores, vieron incrementados significativamente su contenido de manoheptulosa (Figura 4.9).



**Figura 4.8.** Contenido de azúcares soluble de las hojas del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra) y en presencia o ausencia de flores en el momento de la plena floración. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Fecha de muestreo: abril de 2005.



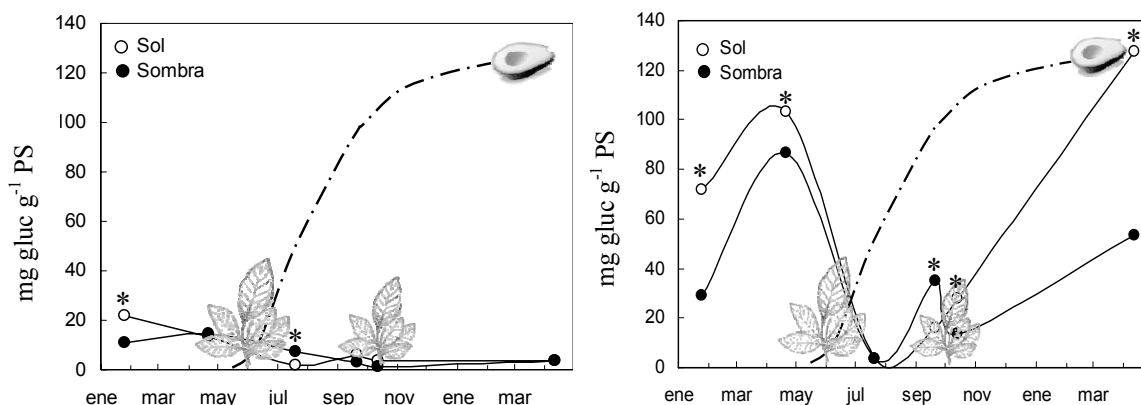
**Figura 4.9.** Contenido de azúcares soluble de los brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra) y bajo presencia o ausencia de flores. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Fecha de muestreo: abril de 2005.



#### **4.2. Azúcares insolubles**

Como carbohidrato de reserva, el almidón presentó bajas concentraciones en las hojas y notablemente mayores en los brotes. Se apreciaron diferencias significativas entre las hojas iluminadas y las sombreadas sólo antes de floración (enero-marzo) y en el período entre las dos brotaciones (julio) (Figura 4.10). Los brotes evidenciaron un incremento hasta el período de floración, a partir del cual su concentración de almidón disminuyó alcanzando su contenido más bajo. A partir de la segunda brotación vegetativa, la concentración de almidón en los brotes se incrementó de manera constante hasta el siguiente período de floración. Por otra parte, fue en los brotes donde se observó una significativa diferencia respecto de su nivel de radiación recibido. Los brotes iluminados presentaron mayores concentraciones de almidón que los sombreados, con la sola excepción del período previo a la segunda brotación vegetativa, durante el cual fueron los brotes sombreados los que incrementaron en mayor medida su concentración de almidón, aún cuando disminuyó rápidamente con el desarrollo de la segunda brotación.

En los brotes iluminados, la concentración de almidón correspondiente al período de floración del primer año de estudio se diferenció significativamente del correspondiente al segundo año, alcanzando en éste último valores que fueron casi el doble que los del primero. Los brotes sombreados, por su parte, presentaron un moderado incremento en sus concentraciones de almidón de la primera temporada a la segunda (Figura 4.10).

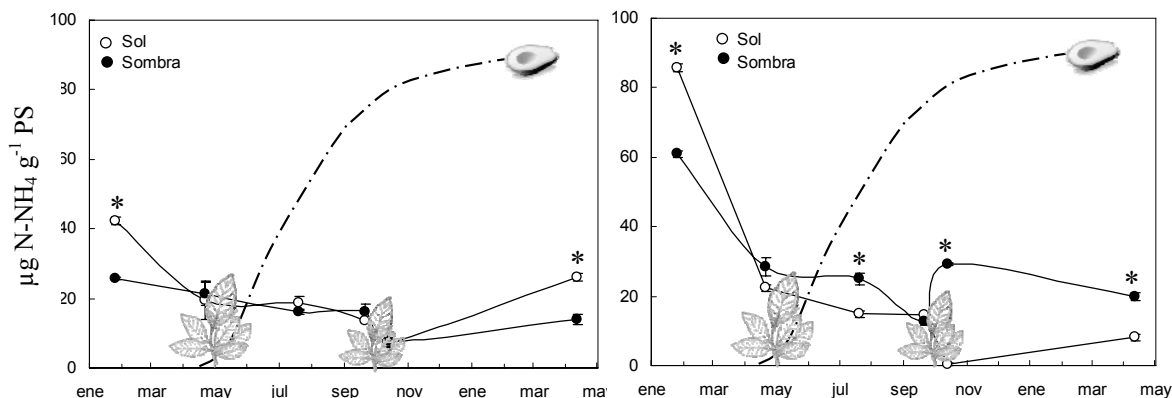


**Figura 4.10.** Contenido de almidón en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas, expresada como glucosa equivalente liberada en la reacción con amiloglucosidasa. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

### 4.3. Fracciones nitrogenadas

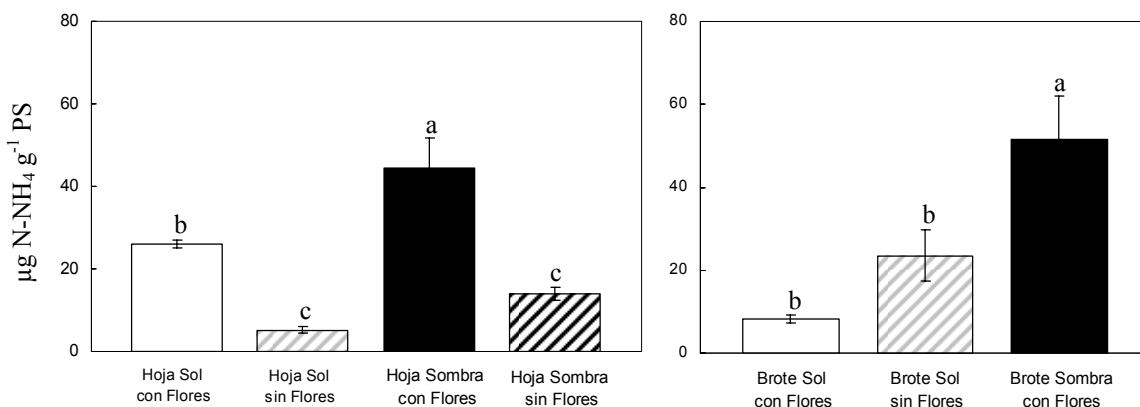
La concentración foliar de iones amonio presentó un comportamiento similar entre las hojas iluminadas y las sombreadas durante el período comprendido entre las dos brotaciones vegetativas. No obstante, durante el invierno y previo a la floración, la concentración de las hojas iluminadas se vio incrementada significativamente respecto de las sombreadas.

En los brotes, también se observó una mayor concentración de iones amonio en aquellos que estaban iluminados frente a los sombreados en etapas previas a la floración y primera brotación vegetativa. Sin embargo, esta tendencia se invirtió a partir de este momento y fueron los brotes sombreados los que presentaron una concentración superior. La segunda brotación vegetativa, no obstante, coincidió con un descenso de la concentración de iones amonio de los brotes iluminados y un aumento en los sombreados, diferencia que se mantuvo significativa hasta el final del período de estudio. Al igual que para el caso del almidón, la concentración de iones amonio en los brotes durante el período previo a la floración del primer año fue más del doble que la observada en el período previo de la del segundo, siendo significativamente mayor esta diferencia en los brotes iluminados (Figura 4.11).



**Figura 4.11.** Contenido de iones amonio ( $\text{N-NH}_4^+$ ) en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

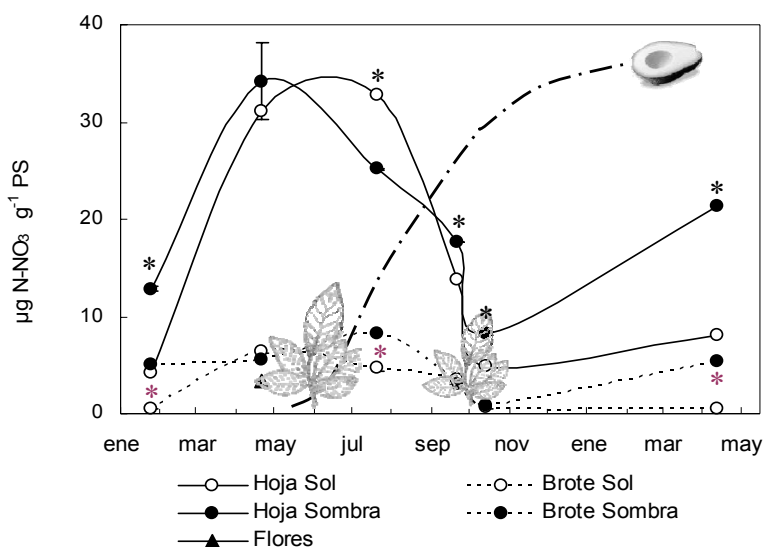
Durante la floración, la concentración foliar de iones amonio fue mayor en brotes con flores que sin flores, así como en condición de sombra que en la iluminada (Figura 4.12). La concentración de iones amonio en los brotes presentó una notable diferencia según la radiación solar recibida, siendo significativamente mayor en los brotes sombreados. En los brotes iluminados, además, y al contrario que en las hojas, la presencia de flores coincidió con una disminución en la concentración de iones amonio. No se contó con material vegetal correspondiente a los brotes sombreados sin flores para este análisis.



**Figura 4.12.** Concentración de iones amonio ( $\text{N-NH}_4^+$ ) en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra) y con presencia o ausencia de flores. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Fecha de muestreo: abril de 2006.

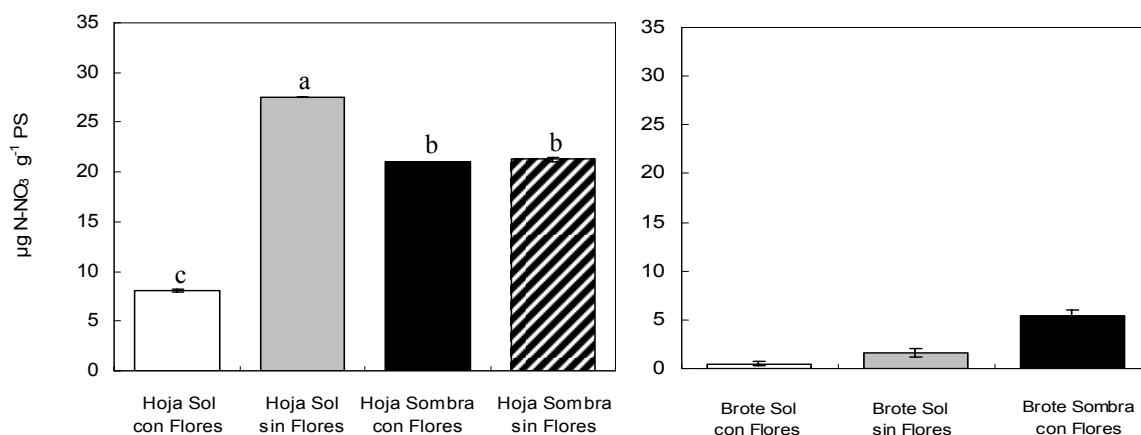
En relación con la concentración de iones nitrato, se apreció un comportamiento estacional en su concentración foliar, con un importante incremento que comenzó a la salida del invierno y previo a la floración y primera brotación vegetativa (Figura 4.13). Este incremento se vio totalmente revertido antes de la segunda brotación vegetativa, a partir de la cual comenzó una nueva recuperación de las concentraciones pero a una tasa más baja que en la primera brotación. La concentración de iones nitrato fue, en general, significativamente superior en las hojas sombreadas que en las iluminadas, existiendo la única excepción en el período entre brotaciones vegetativas.

En los brotes, la concentración de iones nitrato fue notablemente menor que la de las hojas, tanto en los iluminados como en los sombreados. La concentración de los brotes iluminados fue más baja que la de los sombreados durante todo el período de evaluación, alcanzando la significación estadística durante el desarrollo vegetativo.



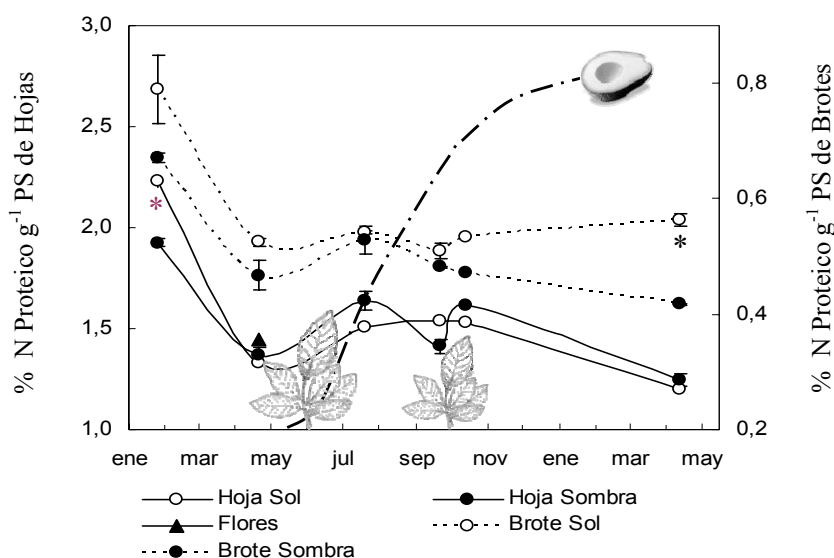
**Figura 4.13.** Concentración de iones nitrato ( $N-NO_3^-$ ) en hojas y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate en la temporada.

Al contrario que para el caso del ión amonio, en las hojas iluminadas la presencia de flores tuvo un fuerte efecto sobre la concentración de iones nitrato, disminuyéndola (Figura 4.14). Este efecto fue inexistente en las hojas sombreadas. En los brotes, y al igual que para el ión  $\text{NH}_4^+$ , la luz disminuyó su concentración de nitratos en comparación con los brotes sombreados (Figura 4.14).



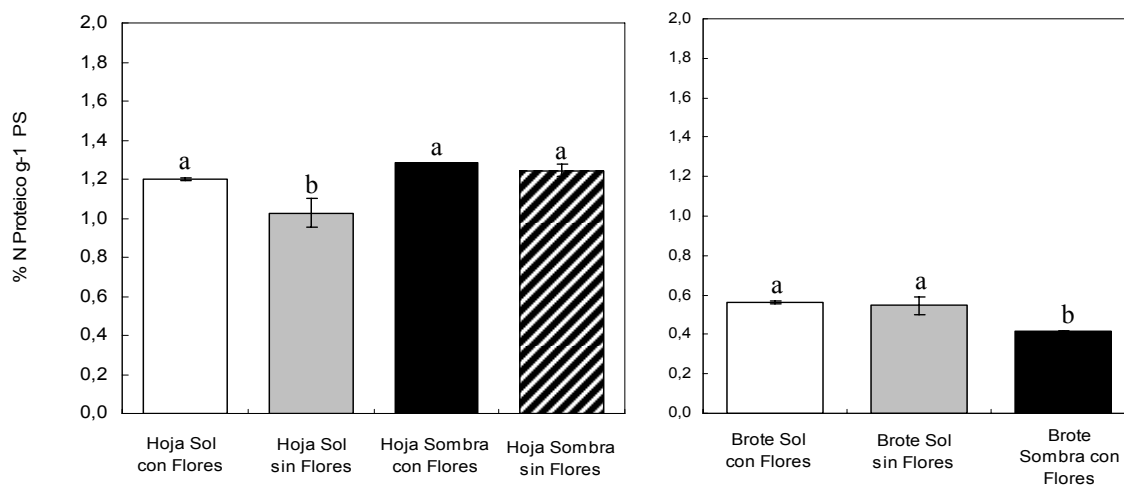
**Figura 4.14.** Concentración de iones nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra) y con presencia o ausencia de flores. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Fecha de muestreo: abril de 2005.

Previa a la floración, el contenido de nitrógeno proteico presentó un fuerte descenso, tanto en las hojas, como en los brotes. Con el transcurso de la primera brotación vegetativa, el nivel en ambos tipos de órganos tendió a recuperarse levemente. Sin embargo, volvió a disminuir hacia la segunda brotación vegetativa. Tanto en las hojas como en los brotes, el período previo a la floración del primer año de estudio presentó concentraciones significativamente superiores a las observadas en el segundo. El desarrollo de ambas brotaciones vegetativas produjo un descenso en las concentraciones de nitrógeno proteico, que en el caso de la primera permitió, no obstante, una recuperación parcial. Las hojas presentaron contenidos de nitrógeno proteico significativamente superiores a los observados en los brotes, aún cuando la tendencia de las concentraciones a lo largo del tiempo fue similar (Figura 4.15).



**Figura 4.15.** Concentración de nitrógeno proteico (N-Proteico) en hojas y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate en la temporada.

La concentración de nitrógeno proteico fue afectada por la presencia o ausencia de flores en los brotes iluminados, presentando los mayores niveles los brotes con flores (Figura 4.16). No se observaron diferencias en las concentraciones de nitrógeno proteico de las hojas de los brotes con flores por efecto de la radiación, pero sí en las hojas de los brotes sin flores, presentando los sombreados una mayor concentración de nitrógeno proteico. Los brotes iluminados, por su parte, no mostraron diferencias en sus contenidos de nitrógeno proteico por efecto de las flores, pero sí con los brotes sombreados que presentaron una menor concentración cuando tenían flores (Figura 4.16).

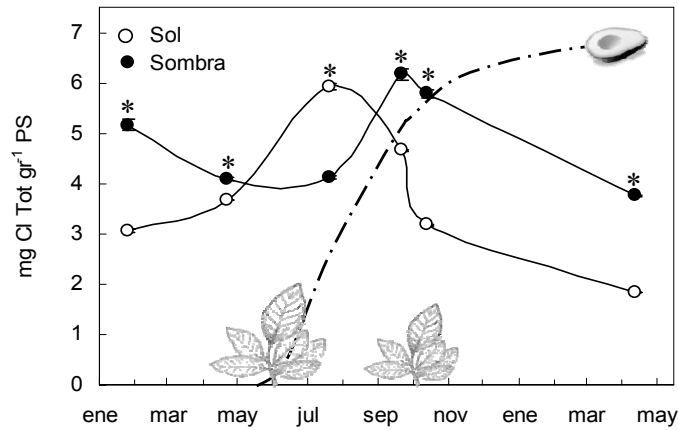


**Figura 4.16.** Concentración de nitrógeno proteico (N-proteico) en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra) y con presencia o ausencia de flores. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Fecha de muestreo: abril de 2006.

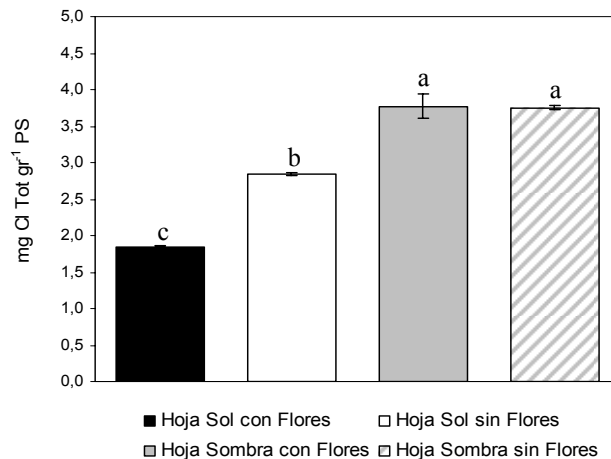
#### 4.4. Clorofilas totales

La concentración de clorofilas totales en los brotes iluminados mostró una tendencia estacional, aumentando al comienzo de la primera brotación vegetativa, y alcanzando su mayor contenido al finalizar esta brotación. Pero, con el desarrollo de la segunda brotación vegetativa y el transcurso del periodo invernal disminuyó progresivamente (Figura 4.17). Cabe destacar, que en el periodo comprendido entre las dos brotaciones vegetativas, las hojas sombreadas presentaron un incremento significativo en el contenido de clorofilas totales.

El nivel de radiación que recibieron los brotes mostró un efecto significativo sobre el contenido en clorofilas totales de las hojas durante el período de floración (Figura 4.18). En general, las hojas sombreadas presentaron una mayor densidad de clorofilas por unidad de superficie que las hojas iluminadas, y su concentración de clorofila total no se vio modificada con la presencia o ausencia de flores. Sin embargo, en las hojas iluminadas el contenido en clorofila total presentó una clara diferencia a favor de los brotes sin flores (Figura 4.18).



**Figura 4.17.** Concentración de clorofilas totales de las hojas del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.



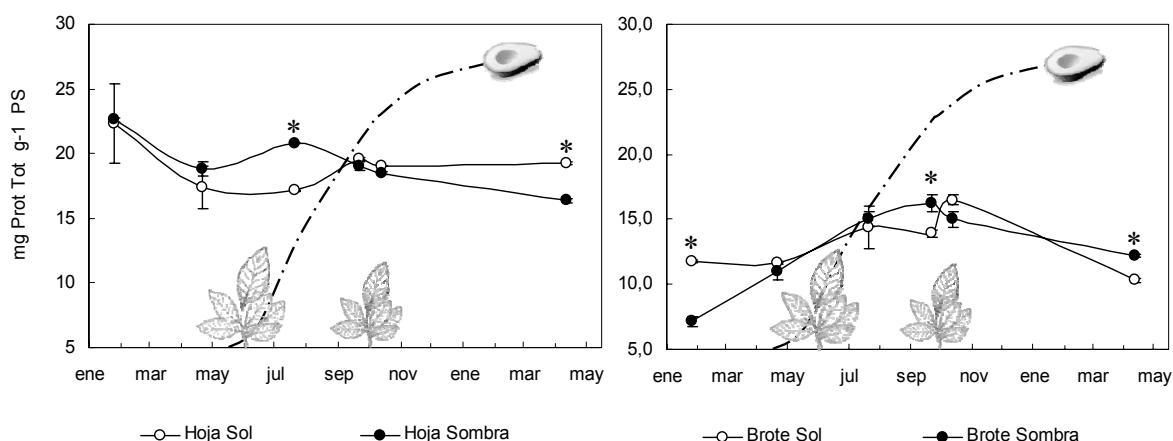
**Figura 4.18.** Concentración de clorofilas totales de las hojas del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra) y con presencia o ausencia de flores. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Fecha de muestreo: abril de 2006.

#### 4.5. Proteínas totales

Las proteínas totales solubles en las hojas sólo mostraron diferencias significativas entre las iluminadas y las sombreadas durante el desarrollo del primer crecimiento vegetativo, período en el que las hojas sombreadas presentaron concentraciones



superiores (Figura 4.19). Esta diferencia desapareció durante el segundo crecimiento vegetativo, para finalizar el período invernal y previo a la siguiente floración con una nueva diferencia significativa a favor de las hojas iluminadas. En general, los valores de proteínas totales solubles en las hojas fueron superiores a los observados en los brotes (Figura 4.19). En los brotes, no se observó una clara tendencia en las concentraciones de proteínas totales solubles entre los iluminados y sombreados (Figura 4.19).



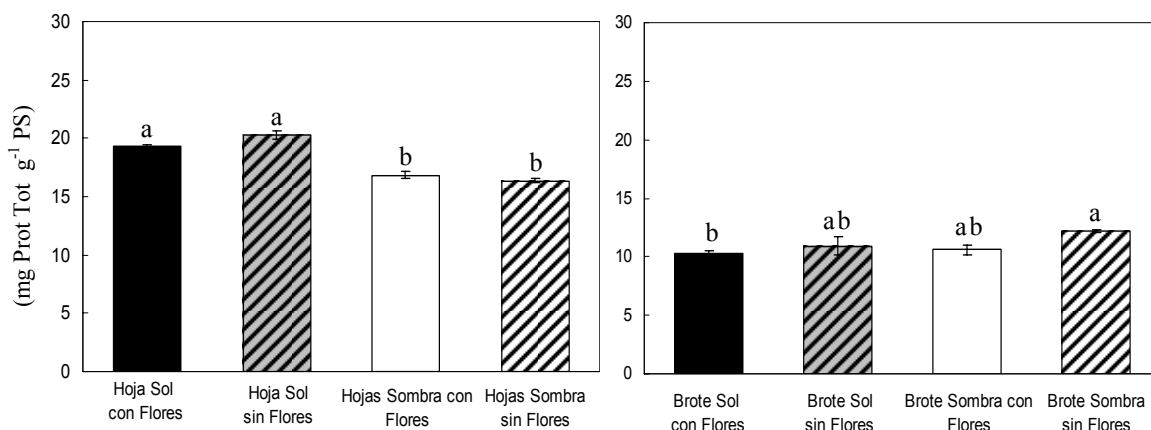
**Figura 4.19.** Concentración de proteínas totales solubles en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

El análisis de las proteínas totales solubles en las hojas y los brotes durante el período de floración (Figura 4.20) mostró un incremento de las concentraciones en las hojas iluminadas respecto de las sombreadas, siendo esta concentración mayor en las hojas de los brotes iluminados sin flores. En los brotes, no se observó una clara diferencia entre los iluminados y los sombreados, así como por la presencia o ausencia de flores (Figura 4.20).

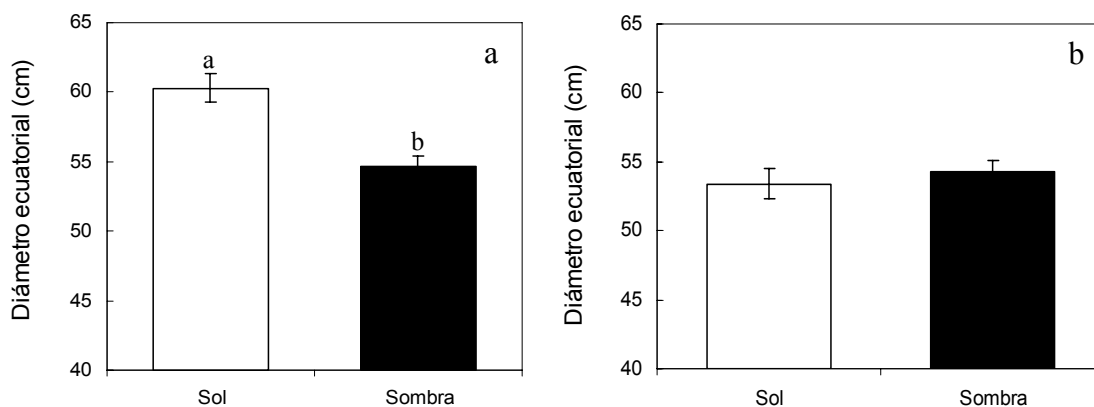
#### 4.6. Crecimiento vegetativo y reproductivo

Durante la segunda brotación vegetativa (Figura 4.21a) el diámetro ecuatorial de los frutos situados en brotes iluminados fue significativamente mayor que el de los

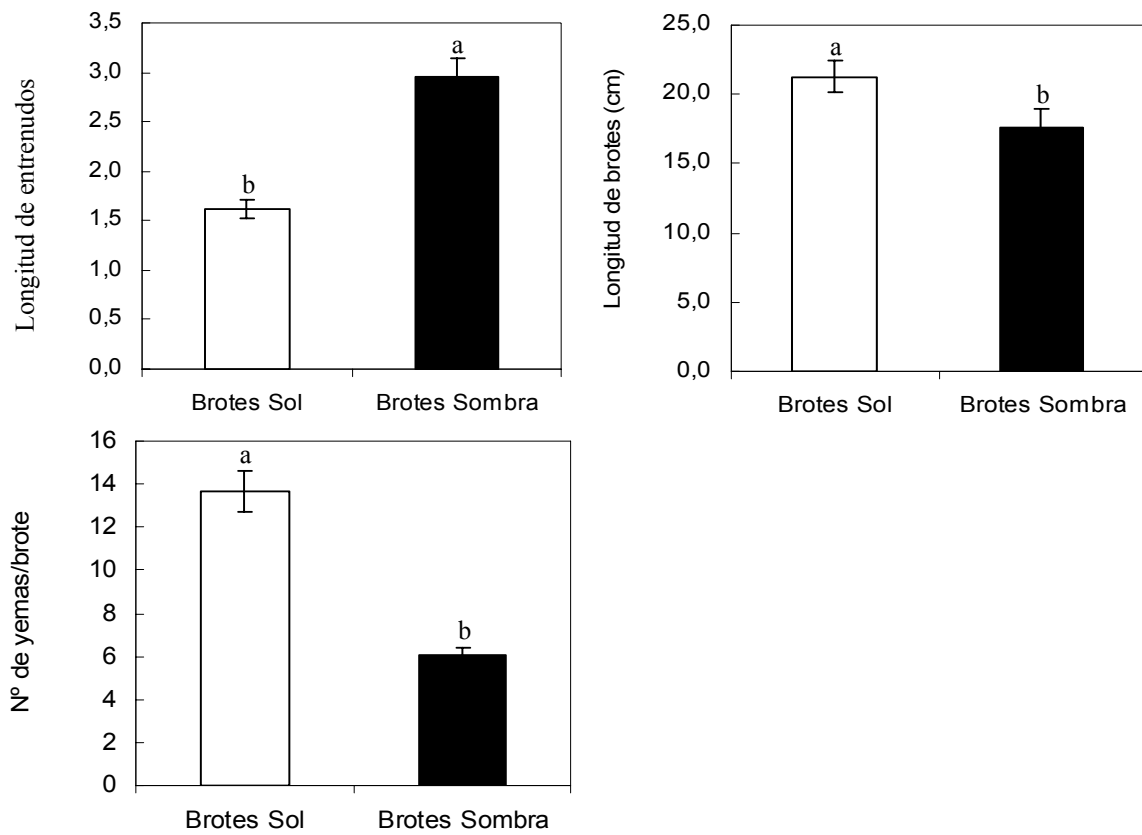
sombreados (Figura 4.21). Esta diferencia desapareció cuando el fruto alcanzó el estado III de su desarrollo (noviembre). Finalmente, los brotes sombreados presentaron un mayor largo de entrenudos y los iluminados una mayor longitud y un mayor número de yemas (Figura 4.22).



**Figura 4.20.** Concentración de proteínas totales solubles en hojas y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra) y con presencia o ausencia de flores. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Fecha de muestreo: abril de 2006.



**Figura 4.21.** Efecto de dos niveles de radiación sobre el tamaño del fruto del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 20 frutos. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Valores expresados como diámetro ecuatorial del fruto (mm). Las mediciones fueron realizadas en dos fechas: a) 13 de octubre de 2005 y b) 15 de noviembre de 2005. Los valores corresponden a medias  $\pm$  ES.



**Figura 4.22.** Efecto de dos niveles de radiación sobre la brotación del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 20 mediciones. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Valores correspondientes a medias  $\pm$  ES. Fecha de medición: 25 de enero de 2006.



## CAPITULO 5



### ***Factores Ecofisiológicos Relacionados con el Estrés y la Floración del Aguacate***



---

## Factores Ecofisiológicos Relacionados con el Estrés y la Floración del Aguacate

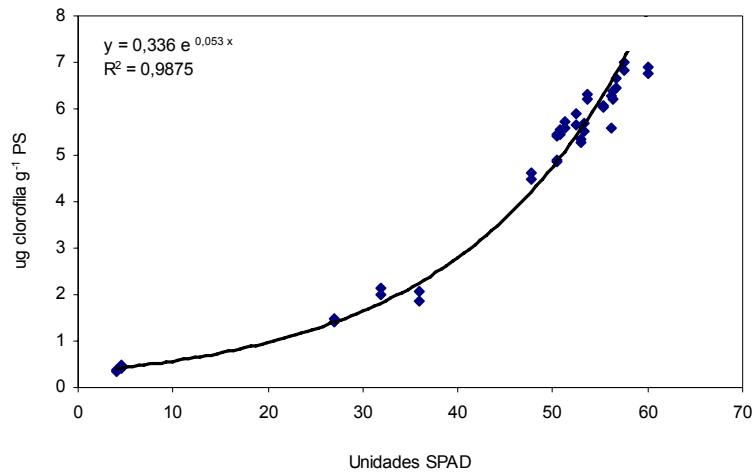
La determinación de clorofilas y elementos minerales exige de análisis destructivos. Para nuestro estudio este aspecto representaba un problema si queríamos seguir siempre la evolución de las mismas hojas próximas al fruto. Para resolverlo, recurrimos a las unidades SPAD, pero precisábamos de su validación previa. Se estudió, por tanto, la relación entre dichas unidades y la concentración foliar de elementos minerales y clorofilas.

### 5.1. Clorofilas y elementos minerales

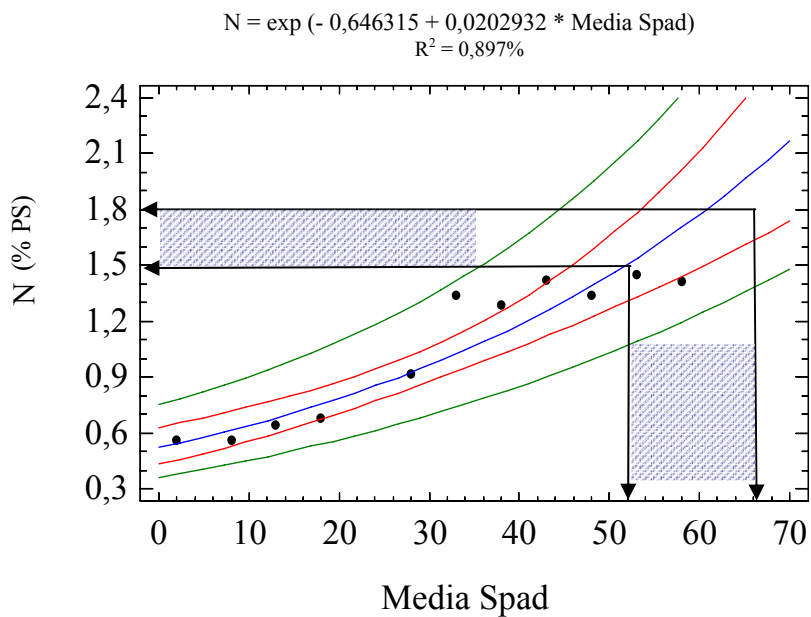
La Figura 5.1 muestra una elevada correlación entre las unidades SPAD y el contenido en clorofilas totales de las hojas de aguacate. En esta especie, la relación se aproxima a un ajuste exponencial ( $R^2=0.987$ ;  $P \leq 0,01$ ), e indica, tal como se ha observado en los cítricos (Calabretta *et al.*, 2004), que las unidades SPAD constituyen un método indirecto fiable de medición de clorofilas.

Al analizar la curva de ajuste entre el contenido foliar de N y las unidades SPAD (Figura 5.2), se aprecia que, al igual que con el contenido en clorofilas totales, existe una fuerte correlación entre el porcentaje de nitrógeno foliar y las unidades SPAD en aguacate ( $R=0,897$ ;  $P \leq 0,01$ ). Al considerar como valor óptimo de N foliar el rango 1,5%-1,8% bajo las condiciones de clima y suelo mediterráneo, se tuvo como rango más adecuado 52-66 unidades SPAD (Figura 5.2).

Por otra parte, solo el N y el P presentaron correlaciones estadísticamente significativas con las unidades SPAD (Tabla 5.1).



**Figura 5.1.** Relación entre el contenido en clorofilas de las hojas de aguacate cv. 'Hass' y las unidades SPAD. Cada valor es la media de 5 hojas y 3 lecturas SPAD. Valores correspondientes a mayo de 2006.



**Figura 5.2.** Curva de ajuste entre el contenido de nitrógeno foliar y las unidades SPAD en las hojas de aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 5 hojas y 3 lecturas SPAD. Determinaciones realizadas en mayo de 2006.



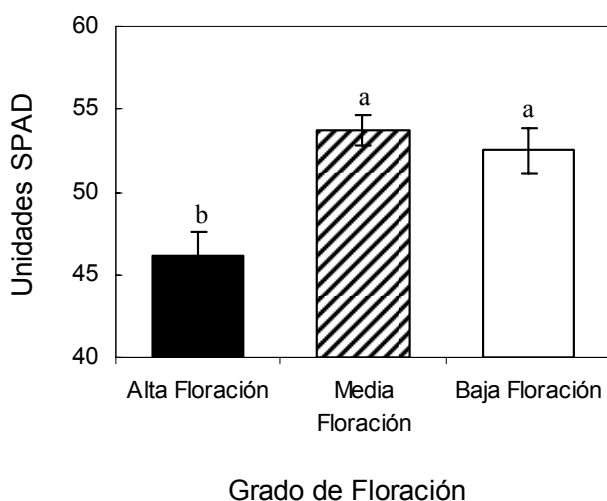
**Tabla 5.1.** Coeficientes de correlación (R) entre las unidades SPAD y la concentración foliar de N y P, expresados como porcentaje del PS, en hojas de aguacate cv. 'Hass'. Determinaciones realizadas en mayo de 2006 en 6 parcelas experimentales diferentes.

| N    |     | P    |     |
|------|-----|------|-----|
| 0.95 | *** | 0.87 | *** |
| 0.97 | *** | 0.89 | *** |
| 0.98 | *** | 0.96 | *** |
| 0.84 | *** | 0.55 | *   |
| 0.91 | *** | 0.61 |     |

\*  $P \leq 0.1$  \*\*  $P \leq 0.05$  \*\*\*  $P \leq 0.001$

Con el fin de evaluar la fidelidad del método de evaluación indirecta de clorofilas mediante las mediciones SPAD, éstas se determinaron en las tres intensidades de floración utilizadas para el capítulo 3. La Figura 5.3 nos muestra las medias, evaluadas en septiembre de 2005.

En la Figura 3.12, la tendencia de las concentraciones de clorofila sitúa a la intensidad BF (4,7 mg Chl totales  $g^{-1}$  PS) como la de mayor concentración, seguida de la MF (3,2 Chl totales  $g^{-1}$  PS), y de la AF (1,55 mg Chl totales  $g^{-1}$  PS). Al realizar el mismo análisis, pero con unidades SPAD (Figura 5.3), la similitud respecto a dicha tendencia es evidente, observándose los mayores valores SPAD en los tratamientos MF y BF (53,7 y 52,5 unidades SPAD, respectivamente), presentando ambas intensidades una diferencia significativa respecto a la BF (46,2 unidades SPAD).



**Figura 5.3.** Influencia de la intensidad de floración sobre los valores de las unidades SPAD de las hojas de aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 5 hojas y 3 lecturas SPAD. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Valores correspondientes a septiembre de 2005.

## 5.2. Prolina

### 5.2.1. Dinámica de los contenidos de prolina en los diferentes órganos del aguacate

Los análisis de los diferentes órganos de la planta muestran que las principales concentraciones de este aminoácido se encontraron en los brotes y pulpa+piel (Figura 5.4). En las hojas, en general, las concentraciones de prolina fueron bastante bajas, sufriendo un moderado incremento en la época invernal (enero) y de madurez del fruto, hasta llegada la época de floración, en la que disminuyó. Los brotes, sin embargo, presentaron un comportamiento diferente, mostrando un fuerte incremento en la época de floración ( $663,7 \mu\text{g g}^{-1}$  PS), que fue el mayor contenido registrado durante todo el período en estudio, seguido de otro incremento de menor magnitud, producido durante el desarrollo de la primera brotación vegetativa y final de la primera caída fisiológica de frutitos. No se apreció un efecto del período estival ni de la segunda brotación en los niveles de prolina, tanto en las hojas como en los brotes. Resultó destacable, por otra parte, la elevada concentración de prolina detectada en la pulpa+piel, que registró un incremento durante el período invernal, muy cercano al período de maduración del fruto. En el resto de los órganos (pedúnculo del fruto, chalaza, y semilla) mostraron un comportamiento estable de la concentración de prolina; su contenido fue muy escaso ( $\leq 100 \mu\text{g g}^{-1}$  PS), excepto para la chalaza, en la que osciló entre 150 y  $200 \mu\text{g g}^{-1}$  PS.

Al comparar los niveles foliares de prolina según el nivel de floración (alto o medio) y la ausencia de semilla (paltines, correspondientes a frutos partenocárpicos), no se encontraron diferencias significativas entre ellos (Figura 5.5). Sin embargo, en los brotes la diferencia entre los niveles de floración y los frutos partenocárpicos fue significativa, siendo estos últimos los que presentaron la mayor concentración de prolina ( $110,3 \mu\text{g g}^{-1}$  PS), seguidos por los brotes de MF ( $56,2 \mu\text{g g}^{-1}$  PS) y, finalmente, los brotes de AF ( $4,4 \mu\text{g g}^{-1}$  PS).

### 5.2.2 Efecto del a presencia del fruto sobre el contenido en prolina

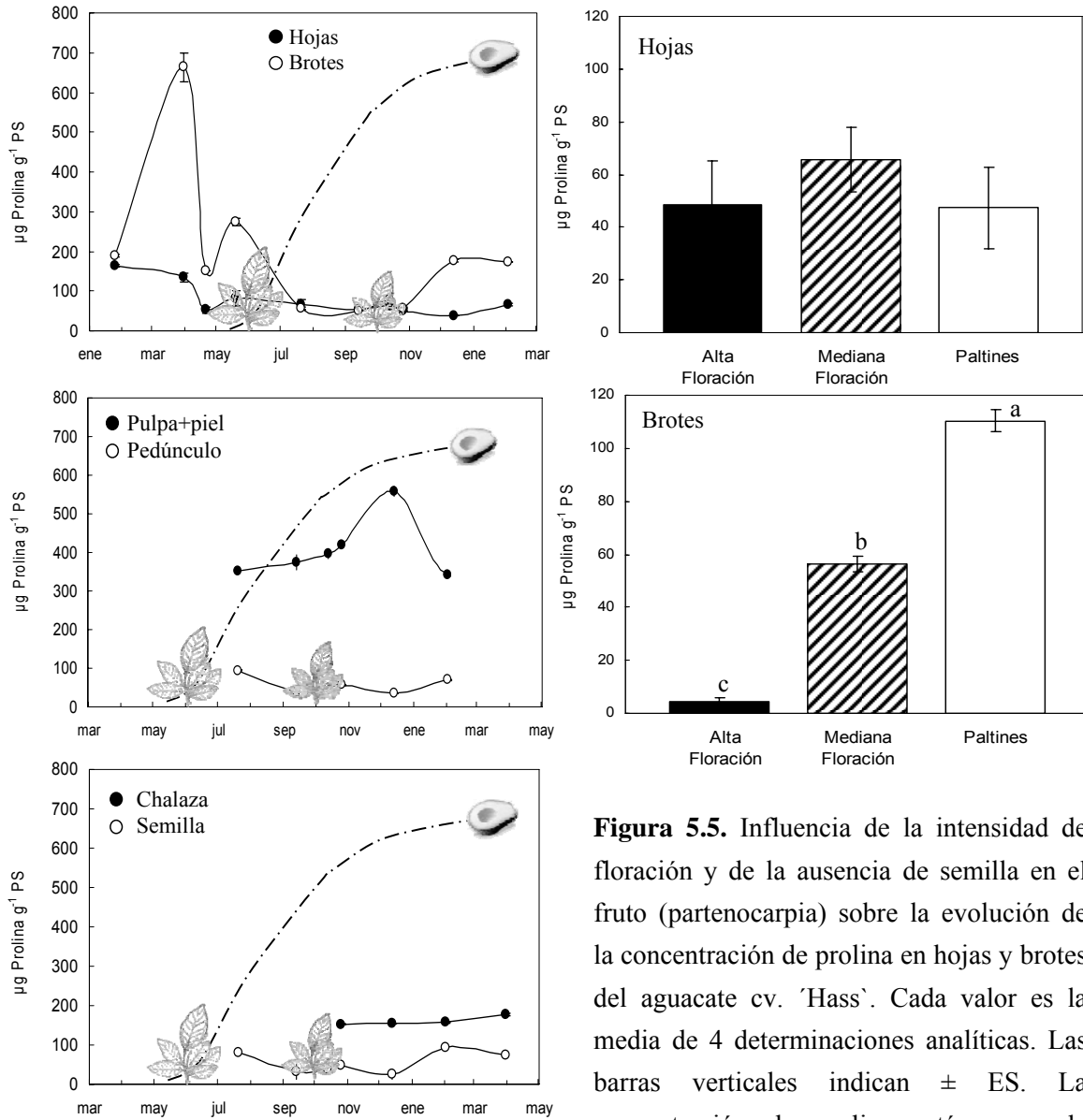
Los contenidos de prolina mostraron una tendencia estacionaria, con dos picos, el primero en plena floración y el segundo al final de la segunda caída de frutitos (datos no mostrados). Sin embargo, hubo sólo diferencias significativas entre los tratamientos en el período de maduración del fruto ( $P \leq 0.05$ ). En dicha época, los tratamientos que

provocaron una mayor floración (On T2 y On T3) presentaron las más bajas concentraciones foliares de prolina (Figura 5.6). En los brotes, sin embargo, y durante el mismo período, la eliminación de los frutos incrementó la concentración de prolina en relación con el control (Figura 5.7). Una correlación significativa entre los contenidos de prolina foliar y los parámetros de floración (Tabla 5.2) se presentó en el período de maduración del fruto (T5) ( $R = -0.84$ ,  $P \leq 0.05$ ).

**Tabla 5.2.** Coeficientes de correlación (R) entre la concentración de prolina en hojas y brotes y el porcentaje e intensidad de floración siguientes del aguacate cv. 'Hass'. Los asteriscos muestran significación estadística.

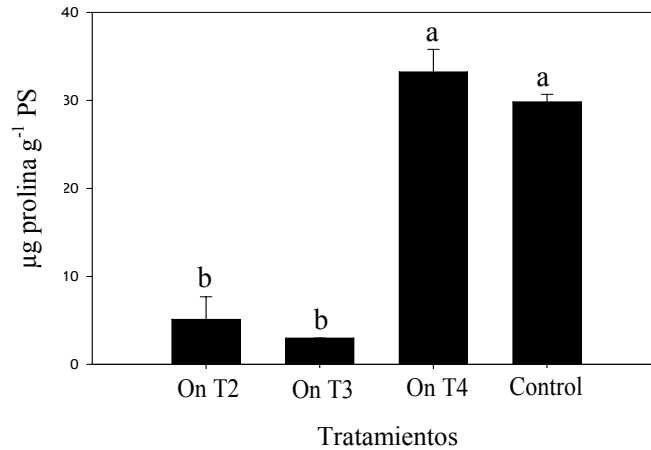
| Fecha | Porcentaje de Floración | Intensidad de Floración | Porcentaje de Floración | Intensidad de Floración |
|-------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|       | Hojas                   |                         | Brotes                  |                         |
| T3    | 0.45                    | -0.06                   | -0.85 *                 | -0.30                   |
| T4    | -0.24                   | -0.46                   | 0.02                    | -0.60                   |
| T5    | -0.71                   | -0.84 **                | 0.60                    | 0.77                    |

\*  $P \leq 0.1$  \*\*  $P \leq 0.05$  \*\*\*  $P \leq 0.001$

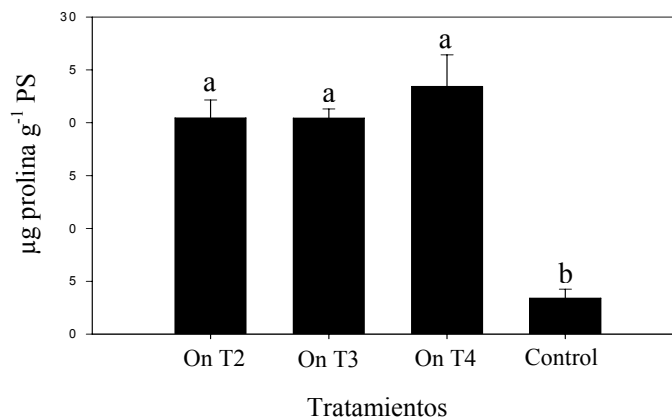


**Figura 5.4.** Evolución de la concentración de prolina en hojas y brotes (arriba), pulpa+piel y pedúnculo (medio) y la chalaza y semilla (abajo). La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo en aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos.

**Figura 5.5.** Influencia de la intensidad de floración y de la ausencia de semilla en el fruto (partenocarpia) sobre la evolución de la concentración de prolina en hojas y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. La concentración de prolina está expresada como  $\mu\text{g}$  prolina  $\text{g}^{-1}$  PS. Datos de julio de 2005.



**Figura 5.6.** Efecto del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración foliar de prolina en el aguacate cv. 'Hass'. Valores correspondientes a la fecha T5. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

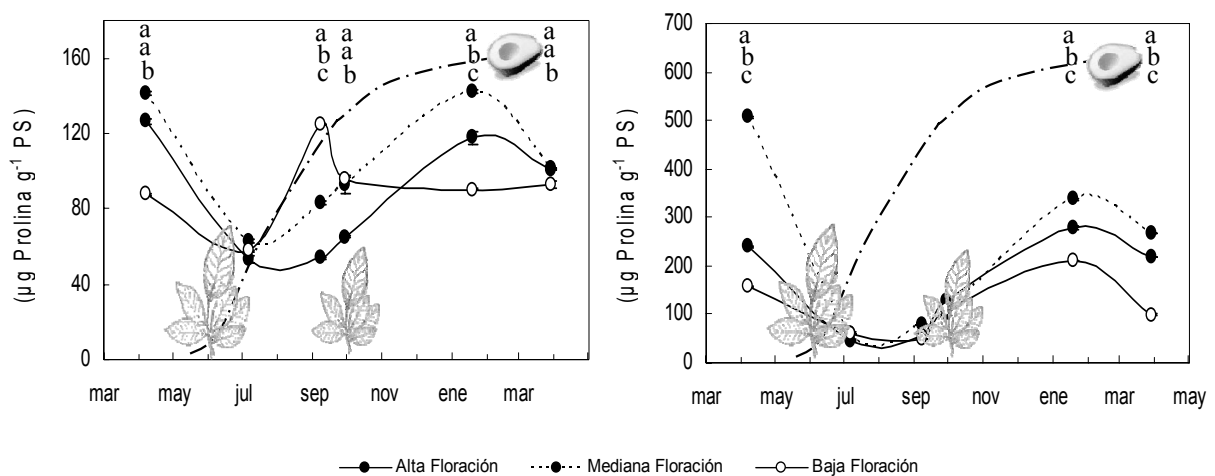


**Figura 5.7.** Efecto del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de prolina en los brotes del aguacate cv. 'Hass'. Valores correspondientes a la fecha T5. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Letras diferentes indican significancia estadística ( $P \leq 0.05$ ).

### 5.2.3 Efecto de la intensidad de floración sobre los contenidos de prolina

El contenido de prolina, tanto de las hojas como de los brotes, siguió una tendencia estacional, presentando en las primeras valores considerablemente inferiores a los observados en los brotes (Figura 5.8). En las hojas, la MF y AF siguieron comportamientos casi iguales durante todo el período de estudio, presentando mayores valores de prolina que la BF, y se diferenciaron entre ellas sólo en la magnitud de los

valores, siendo moderadamente superiores para la MF. En estas dos intensidades, con fruto, las mayores concentraciones de prolina se observaron en el período invernal (enero-febrero) coincidente con la maduración del fruto, y durante el período de floración y comienzos de la primera brotación vegetativa. La intensidad de floración baja (BF), presentó el mismo comportamiento inicial decreciente de las otras intensidades de floración, hasta finales de la primera brotación vegetativa, mostrando un segundo incremento significativo al comienzo de la segunda brotación, coincidente con el final de la segunda caída natural de frutitos. En los brotes (Figura 5.8), la tendencia fue similar prácticamente durante todo el período de estudio, con las mayores concentraciones en la MF, seguida por la AF y finalmente la BF. El período de verano (entre brotaciones) presentó las menores concentraciones sin existir diferencia significativa entre ellas. Al igual que para las hojas, se observaron las mayores concentraciones de prolina en el período de floración, disminuyendo progresivamente hacia finales de la primera brotación y en el período de maduración del fruto.

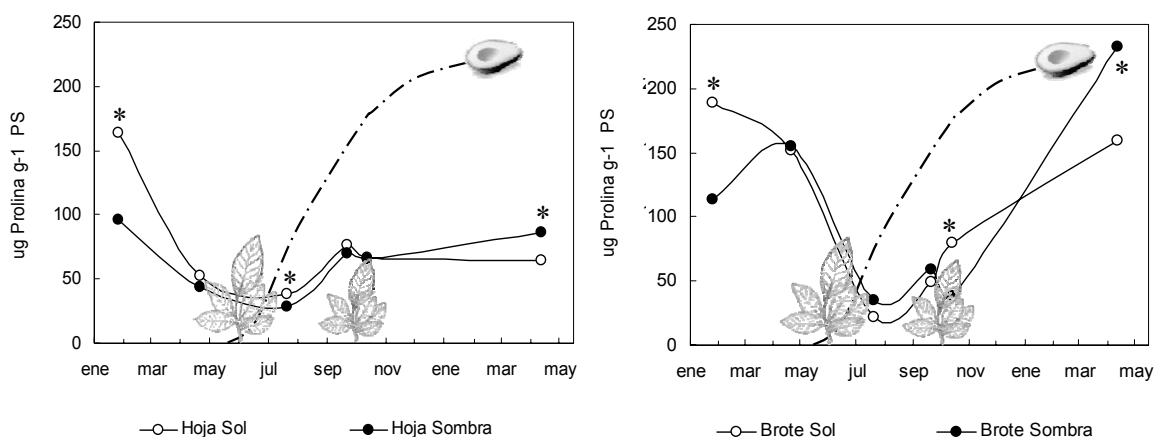


**Figura 5.8.** Contenido de prolina en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo tres niveles de floración, alta, media y baja. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos.

#### 5.2.4. Efecto de dos niveles de radiación solar sobre los contenidos de prolina

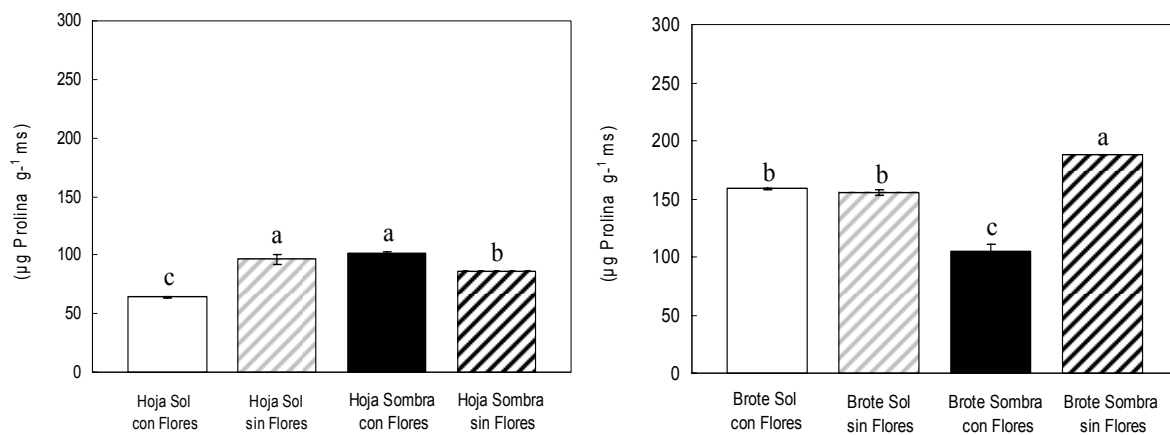
Tanto en las hojas como en los brotes, la concentración de prolina presentó los mayores valores durante el período invernal, con independencia del año en que se midió (Figura 5.9). Durante el primer período invernal, fueron las hojas iluminadas las que presentaron la mayor concentración de prolina, para luego ser las hojas sombreadas las que presentaron la mayor concentración en el segundo periodo invernal. Además, es en estos períodos cuando se aprecian las mayores diferencias entre la condición de iluminación y sombra.

En las hojas, se observó una disminución progresiva de la concentración de prolina hasta el final de la primera brotación vegetativa. Entre ambas brotaciones vegetativas, se produjo un pequeño incremento de prolina, finalizando con el desarrollo de la segunda brotación vegetativa (Figura 5.9). En los brotes se observó una fuerte disminución de la concentración de prolina desde el invierno hasta el final de la primera brotación de primavera-verano, independientemente del nivel de radiación solar (Figura 5.9). A partir de ese momento la concentración de prolina en los brotes se incrementó hasta el período de la siguiente floración, alcanzando esta vez el mayor nivel de prolina los brotes sombreados (Figura 5.9).



**Figura 5.9.** Concentración de prolina en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra). Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos.

El análisis de prolina durante el período de floración (Figura 5.10) mostró una mayor concentración incrementada en las hojas iluminadas con ausencia de flores que en las iluminadas con flores. Las hojas sombreadas, por su parte, presentaron valores similares a las iluminadas sin flores, pero con un pequeño incremento en las que presentaron flores. Los brotes, en general, presentaron mayores valores de prolina que las hojas. Los brotes sombreados fueron los únicos que presentaron una diferencia estadísticamente significativa en su concentración de prolina, siendo los brotes sombreados sin flores los que presentaron la mayor concentración y las con flores la menor.



**Figura 5.10.** Concentración de prolina en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación (sol y sombra) y con presencia o ausencia de flores. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Fecha de muestreo: abril de 2005.

### 5.3. Ácido Abscísico (ABA)

#### 5.3.1. Evolución del contenido de ABA en los órganos del aguacate

El ABA siguió un patrón muy similar en la mayoría de los órganos analizados (Figura 5.11). Las hojas presentaron los menores valores a lo largo de toda la temporada de evaluación, con un pequeño incremento en floración y otro durante el segundo crecimiento vegetativo, coincidente con la segunda caída fisiológica de frutos. En los brotes, se observó, también, un incremento durante la floración, junto con un incremento durante la segunda caída fisiológica de frutos (23,13 µg g<sup>-1</sup> PS), pero de una



magnitud muy superior a la observada en las hojas ( $7-8 \mu\text{g g}^{-1}$  PS). El período de maduración del fruto también se vio acompañado de un incremento de la concentración de ABA en los brotes.

La pulpa y piel presentaron elevados contenidos de ABA, observándose en su dinámica dos picos: el primero correspondiente al período del segundo crecimiento vegetativo y final de la segunda caída fisiológica de frutos ( $21,49 \mu\text{g g}^{-1}$  PS), y el segundo durante la maduración del fruto (enero-febrero), siendo este último pico de mayor magnitud que el primero ( $24,43 \mu\text{g g}^{-1}$  PS). El pedúnculo del fruto siguió exactamente la misma tendencia durante todo el período de análisis, pero con concentraciones algo menores y con un máximo ( $13,96 \mu\text{g g}^{-1}$  PS) durante la segunda caída fisiológica de frutos y segundo crecimiento vegetativo (Figura 5.11). Cabe destacar que fue la semilla el órgano que alcanzó la mayor concentración de ABA ( $34,09 \mu\text{g g}^{-1}$ ) durante la segunda caída fisiológica de frutos. La chalaza siguió una tendencia similar, aunque con concentraciones inferiores ( $23,95 \mu\text{g g}^{-1}$  PS). Ambos órganos presentaron un incremento durante la maduración del fruto, coincidente con la última fecha de evaluación de nuestro estudio.

El análisis del contenido de ABA al final de la primera caída fisiológica de frutos (julio), para dos intensidades de floración y en frutos partenocárpicos (paltines) (Figura 5.12) muestra que su concentración se incrementó con el aumento de la floración, tanto en las hojas como en los brotes. La concentración de ABA en los paltines durante este período fue similar a la de la MF de las hojas y los brotes. Finalmente, el contenido de ABA en la pulpa y en la piel disminuyó con el aumento de la floración (Figura 5.12). En el pedúnculo del fruto, sin embargo, no existió diferencia debida a la intensidad de floración.

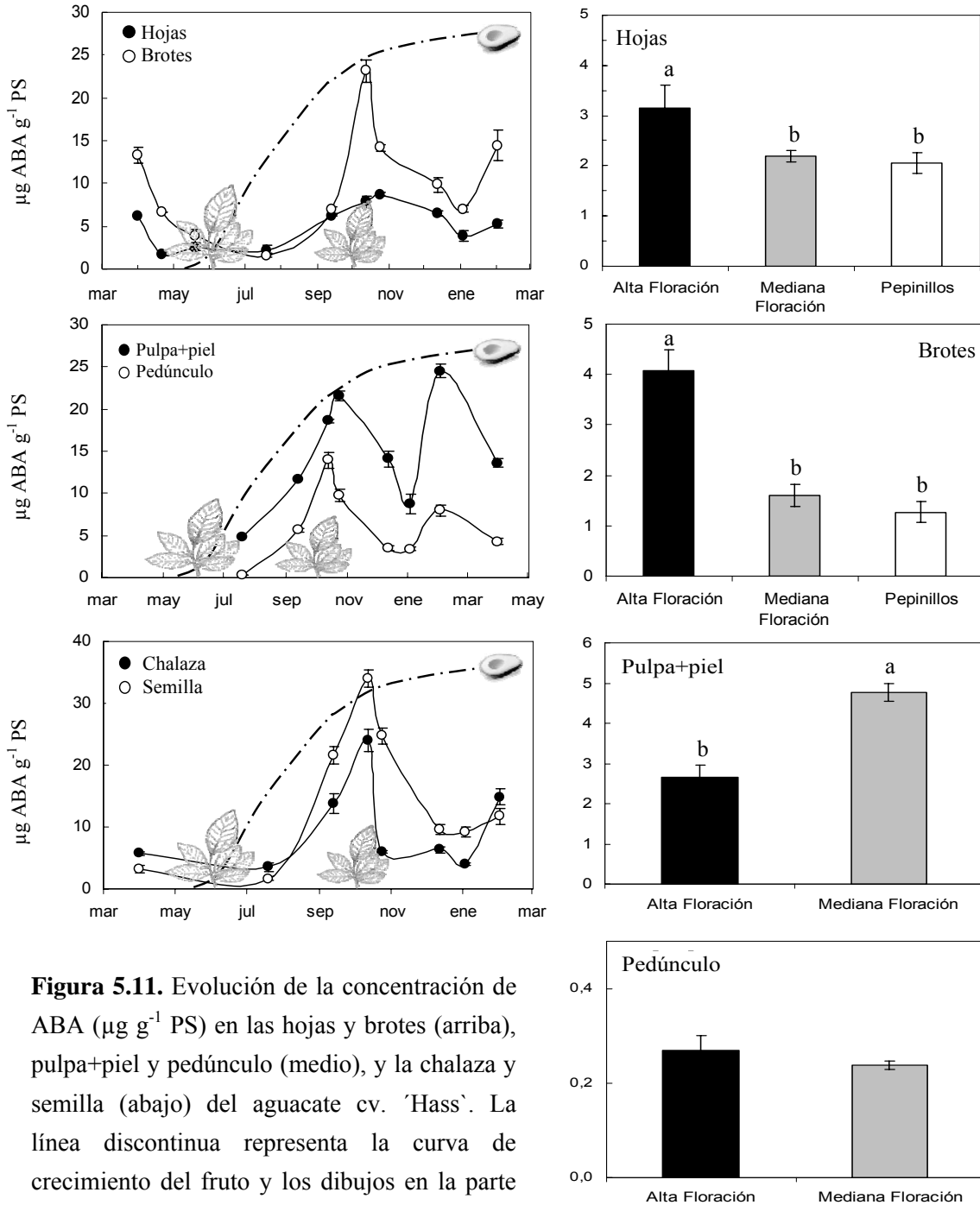
### 5.3.2. Efecto del tiempo de permanencia del fruto en el árbol sobre la concentración de ABA

La eliminación del fruto no tuvo un efecto claro sobre la concentración foliar de ABA, independientemente de la época en que se efectuó. En los brotes, sólo hubo diferencias entre los tratamientos en el momento de la madurez.

*5.3.3. Efecto de la intensidad de floración sobre los contenidos de ABA*

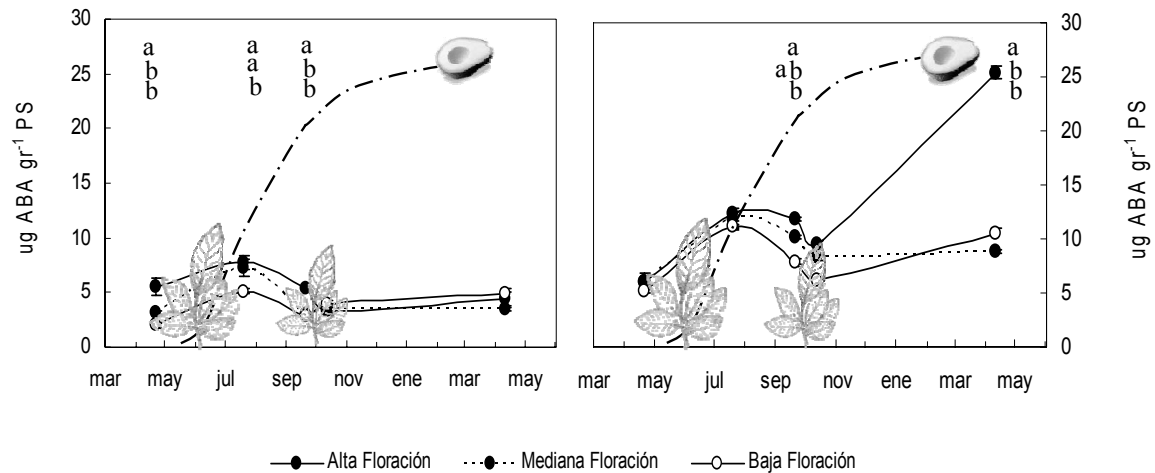
El ácido abscísico presentó mayores concentraciones en los brotes que en las hojas (Figura 5.13). En las hojas, la intensidad de floración provocó diferencias significativas sólo en el período comprendido entre la floración y la segunda brotación vegetativa. Los árboles de MF y AF mostraron un moderado incremento de sus concentraciones foliares de ABA en comparación con las de BF.

En los brotes la concentración de ABA se incrementó en el período de floración, alcanzando su punto máximo hacia el final de la primera caída fisiológica de frutos (julio), pero sin diferencias significativas atribuibles a la intensidad de floración. Durante la segunda brotación vegetativa, la concentración de ABA aumentó en los brotes de los árboles de AF y MF respecto de los de BF. A partir de este período, los árboles de AF presentaron un fuerte incremento en la concentración de ABA de sus brotes, llegando a su concentración máxima durante el período de maduración del fruto; los de las plantas de AF y MF se mantuvieron estables.



**Figura 5.11.** Evolución de la concentración de ABA ( $\mu\text{g g}^{-1}$  PS) en las hojas y brotes (arriba), pulpa+piel y pedúnculo (medio), y la chalaza y semilla (abajo) del aguacate cv. 'Hass'. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos.

**Figura 5.12.** Influencia de la intensidad de floración y de la ausencia de semilla en el fruto (partenocarpia) sobre la evolución de la concentración de prolina en hojas, brotes, pulpa+piel y pedúnculo del fruto del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. La concentración de ABA está expresada como  $\mu\text{g g}^{-1}$  PS.



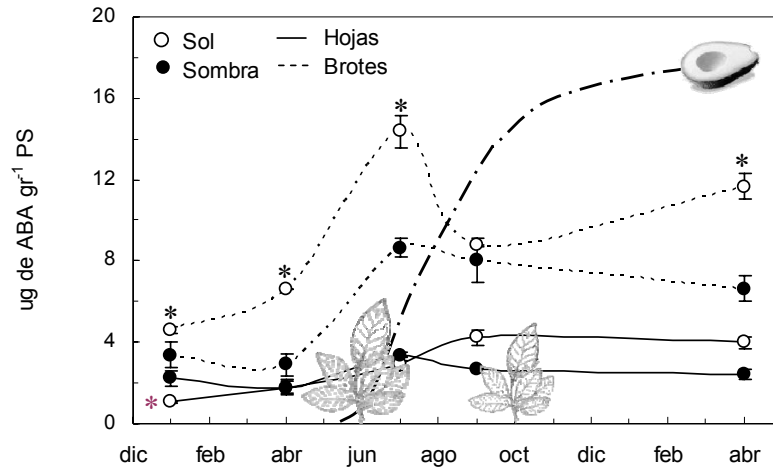
**Figura 5.13.** Efecto de la intensidad de floración sobre la evolución en la concentración de ácido abscísico en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea discontinua representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

#### 5.3.4. Efecto de la radiación solar sobre la concentración de ABA

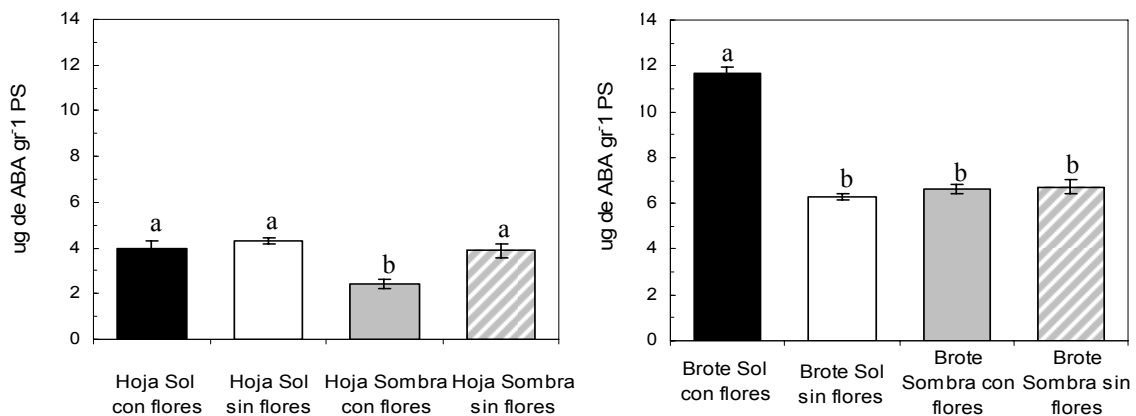
En las hojas, la concentración de ABA no mostró diferencias debidas a la radiación solar hasta finalizar el primer período de crecimiento vegetativo; a partir de éste las hojas iluminadas incrementaron su concentración respecto de las sombreadas (Figura 5.14). La concentración foliar de ABA fue, además, inferior a la observada en los brotes. Durante todo el período de estudio, los brotes iluminados presentaron mayores concentraciones de ABA que los sombreados. A partir del período de floración, se produjo un incremento de la concentración de ABA en ambos órganos (hojas y brotes), coincidiendo este incremento con el período de caída de frutitos (primera caída natural de frutitos) y el desarrollo de la primera brotación vegetativa. Iniciada la segunda brotación vegetativa, se produjo un segundo incremento de la concentración de ABA en los brotes iluminados, llegando así al período de floración de la segunda temporada con una concentración muy superior a la observada durante la primera floración.

El análisis de ABA durante el período de floración (Figura 5.15) no mostró una clara diferencia entre las hojas iluminadas y las sombreadas. Sin embargo, sí se apreció una diferencia entre las hojas con flores y sin flores, presentando las hojas sombreadas

sin flores un mayor contenido de ABA. En los brotes, los iluminados con flores presentaron un nivel casi el doble que el resto de brotes, entre los que no hubo diferencias significativas.



**Figura 5.14.** Influencia de la radiación solar sobre la concentración de ácido abscísico (ABA) en hojas y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. La línea punteada representa la curva de crecimiento del fruto y los dibujos en la parte inferior corresponden a los períodos de crecimiento vegetativo que presenta el aguacate.

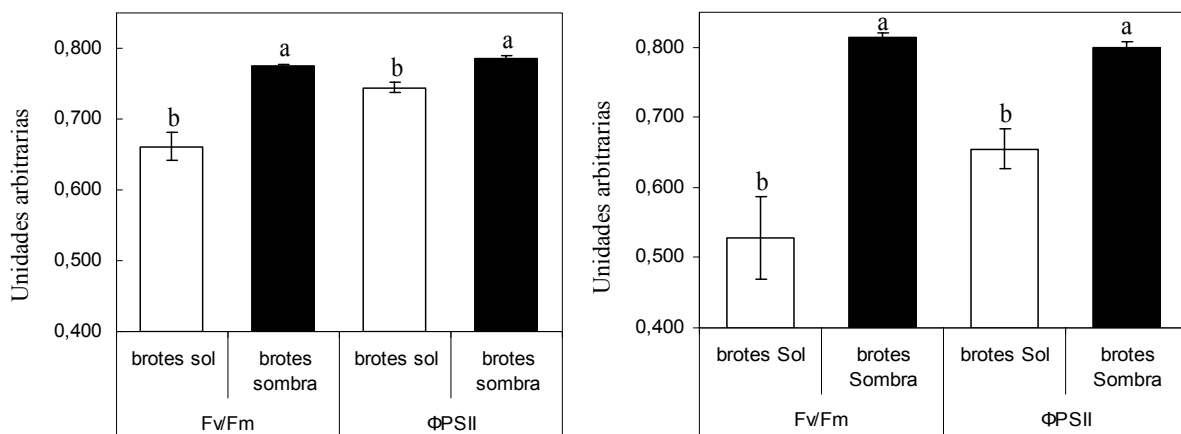


**Figura 5.15.** Influencia de la radiación solar y la presencia de flores sobre la concentración de ácido abscísico en hojas (izquierda) y brotes del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 determinaciones analíticas. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Fecha de muestreo: abril de 2005.

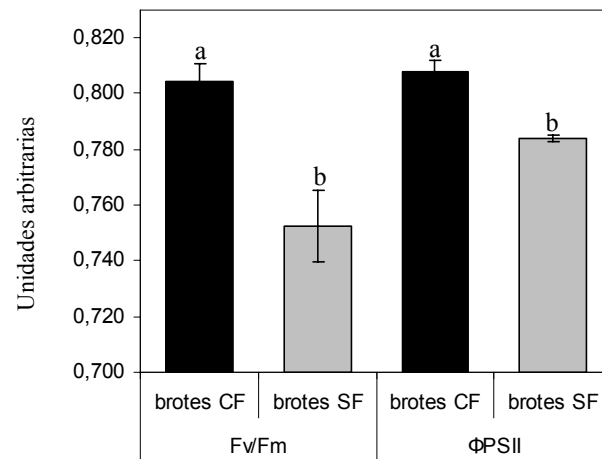
#### 5.4. Estudio de la fluorescencia clorofílica en el aguacate

La eficiencia cuántica máxima del PSII ( $F_v/F_m$ ) mostró, tanto en época de inducción floral como de maduración del fruto, signos de fotoinhibición, con valores menores de  $F_v/F_m$  en los brotes iluminados que en los sombreados (Figura 5.16). Esta disminución de la  $F_v/F_m$  fue significativamente mayor en la segunda medición (35,1% mayor en los brotes sombreados) que en la primera medición (14,6%). Al analizar la eficiencia fotosintética del PSII ( $\Phi_{PSII}$ ) (Figura 5.16), la diferencia entre los brotes iluminados y sombreados en noviembre fue del 5,2% a favor de los sombreados, y no alcanzó la significación estadística. Sin embargo, durante la maduración del fruto (enero) esta diferencia se incrementó hasta un 18% entre ambos tipos de brotes.

El efecto de la presencia o ausencia de frutos en la eficiencia fotosintética se presenta en la Figura 5.17., La eficiencia cuántica máxima del PSII de los brotes sin fruto fue un 6,3% inferior a la de los brotes con fruto. Para el caso de la eficiencia fotosintética del PSII, la diferencia por la acción del fruto fue muy escasa aunque estadísticamente significativa (3%). Por otra parte, el rayado de ramas realizado en otoño incrementó la eficiencia cuántica máxima del PSII en la época de maduración del fruto (enero) (Figura 5.18). La eficiencia fotosintética del PSII no fue modificada significativamente por acción del rayado de ramas (Figura 5.18).

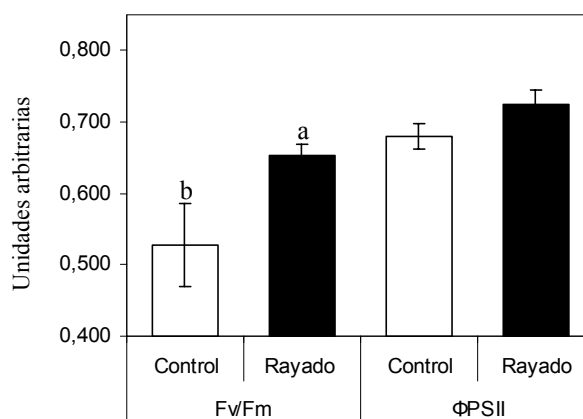


**Figura 5.16.** Eficiencia cuántica máxima del PSII ( $F_v/F_m$ ) y eficiencia fotosintética del PSII en hojas adaptadas a la luz ( $\Phi_{PSII}$ ) del aguacate cv. 'Hass' bajo dos niveles de radiación y en dos fechas de medición. Izquierda: 4 de noviembre de 2005 (inducción floral), Derecha: 25 de enero de 2006 (maduración del fruto). Cada valor es la media de 4 mediciones/brote y 4 repeticiones. Las barras verticales indican  $\pm$  ES.



**Figura 5.17.** Eficiencia cuántica máxima del PSII (Fv/Fm) y eficiencia fotosintética del PSII en hojas adaptadas a la luz ( $\Phi_{PSII}$ ) de brotes con y sin presencia de fruto del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 mediciones/brote y 4 repeticiones. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Valores correspondientes a la época de inducción floral (4 de noviembre).

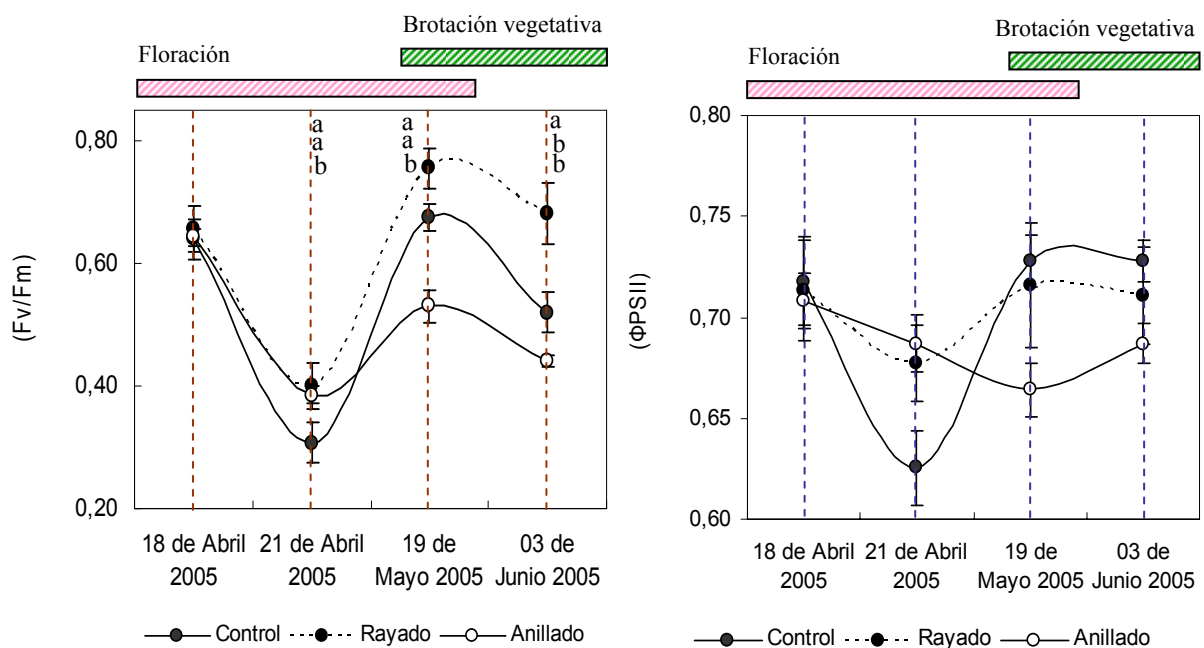
La Figura 5.19 muestra que los brotes de las ramas intactas del aguacate 'Hass' siguen una dinámica estacional de la eficiencia cuántica máxima (Fv/Fm) y de la eficiencia fotosintética del PSII ( $\Phi_{PSII}$ ), presentando ambos valores una notable disminución en plena floración (abril), pero recuperando su nivel por completo al cabo de un mes, período en el que tiene lugar la floración. La Fv/Fm disminuyó de nuevo con el desarrollo de la primera brotación vegetativa, a diferencia de la  $\Phi_{PSII}$ , que se mantuvo estable.



**Figura 5.18.** Eficiencia cuántica máxima del PSII (Fv/Fm) y eficiencia fotosintética del PSII en hojas adaptadas a la luz ( $\Phi_{PSII}$ ) de brotes provenientes de ramas rayadas y sin rayar del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 4 mediciones/brote y 4 repeticiones. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Valores correspondientes a la época de maduración del fruto (25 de enero). Fecha de rayado: 4 de noviembre.

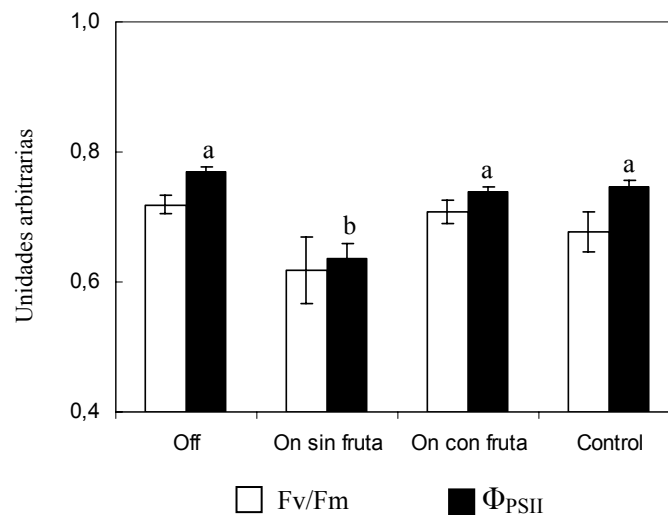
El anillado y el rayado de ramas incrementaron la eficiencia cuántica máxima (Fv/Fm) y fotosintética del PSII ( $\Phi_{PSII}$ ), respecto del control, a los 3 días de efectuados (Figura 5.19). Este incremento fue mayor en la  $\Phi_{PSII}$  que en la Fv/Fm. Posteriormente, y durante un período de 1 mes, aproximadamente, el rayado incrementó la Fv/Fm y la  $\Phi_{PSII}$  hasta valores superiores a los del inicio de la floración (abril). El anillado siguió una pauta similar, pero no logró recuperar la Fv/Fm inicial, manteniendo sus valores, la mayor parte del período de estudio, por debajo del control. El anillado de ramas provocó una reducción significativa de la  $\Phi_{PSII}$ , respecto del rayado y el control, un mes después de realizado (Figura 5.19).

La presencia o ausencia de frutos no alteró los valores de Fv/Fm y  $\Phi_{PSII}$ , independientemente de su ausencia natural (Off) o provocada. Solamente la eliminación de las flores y frutitos de los árboles 'On' redujo significativamente la Fv/Fm y la  $\Phi_{PSII}$  respecto de los árboles Off, 'On con fruta' y Control (Figura 5.20).



**Figura 5.19** Evolución de la eficiencia cuántica máxima del PSII (Fv/Fm) y eficiencia fotosintética del PSII de las hojas adaptadas a la luz ( $\Phi_{PSII}$ ) del aguacate cv. 'Hass' de brotes procedentes de ramas rayadas, anilladas y control. Cada valor es la media de 4 mediciones/brote y 4 repeticiones. Las barras verticales indican  $\pm$  ES, y en algunos casos son de menor tamaño que los símbolos. Fecha de anillado y rayado: 18 de abril.



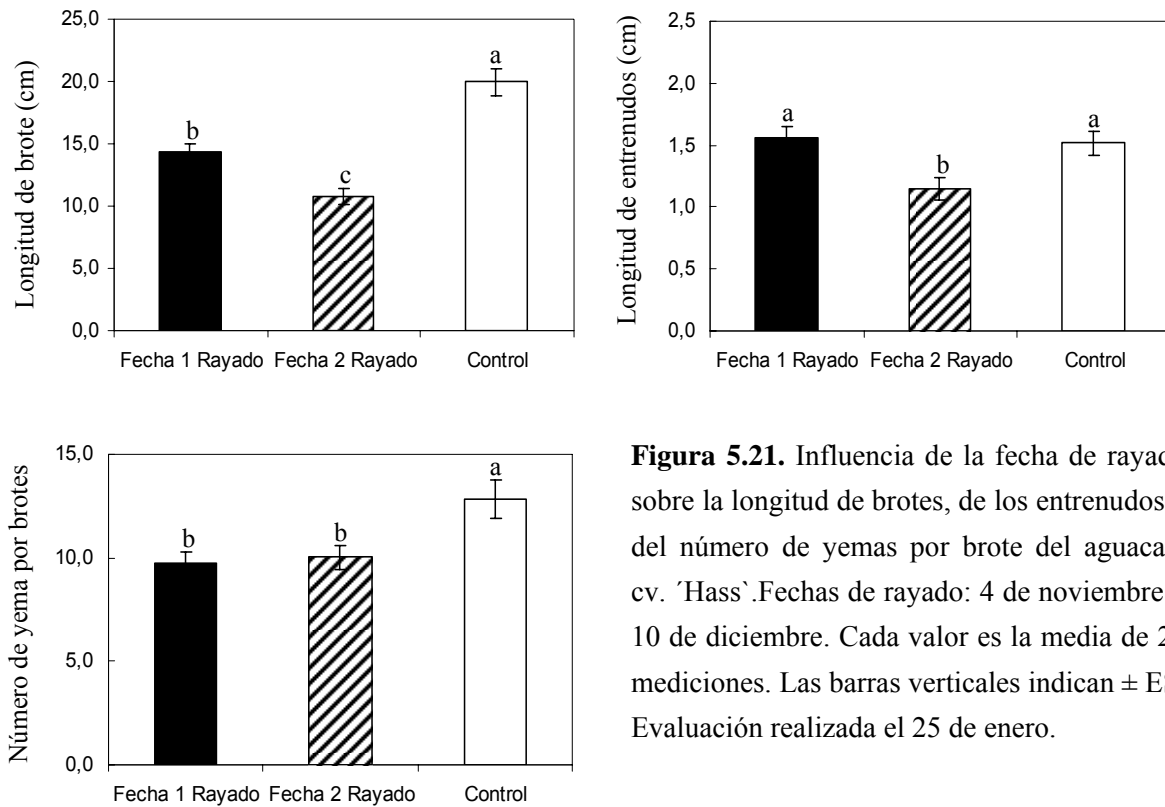


**Figura 5.20.** Influencia de la presencia del fruto sobre la eficiencia cuántica máxima (Fv/Fm) y fotosintética del PSII ( $\Phi_{PSII}$ ) en hojas adaptadas a la luz del aguacate cv. 'Hass'. Clave de tratamientos: 'Off': árbol sin floración, 'On sin fruta': rama que presentaba floración y frutos cuajados, pero que fue eliminada, 'On con fruta': rama del mismo árbol que fue desfrutado, pero a la que se le mantuvo la floración y frutos, y 'Control': árbol con floración y frutos cuajados. Cada valor es la media de 4 mediciones/brote y 4 repeticiones. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Fecha de medición: 10 días después de eliminados los frutos en T1.

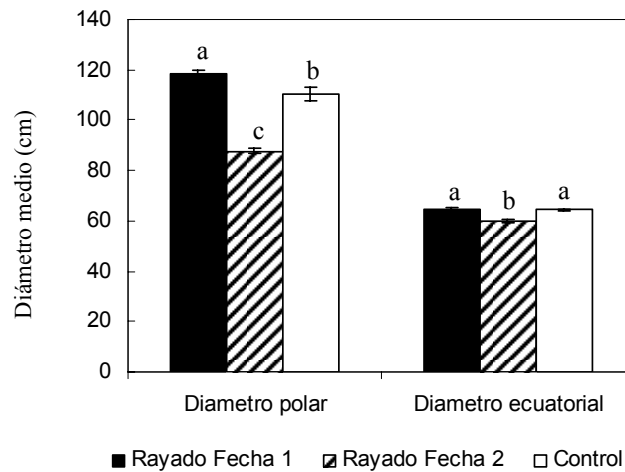
### 5.5. Efecto de la fecha de rayado sobre el crecimiento vegetativo y reproductivo

Independientemente de la fecha de rayado de ramas, la longitud de los brotes se vio significativamente reducida por éste. La segunda fecha de rayado (10 de diciembre) mostró una mayor reducción de la longitud de los brotes en comparación al control, así como una menor longitud de los entrenudos (Figura 5.21). La primera fecha de rayado (4 de noviembre), aún cuando redujo significativamente la longitud de los brotes, mantuvo el largo de los entrenudos. El rayado en cualquiera de las dos fechas redujo significativamente el número de yemas por brote.

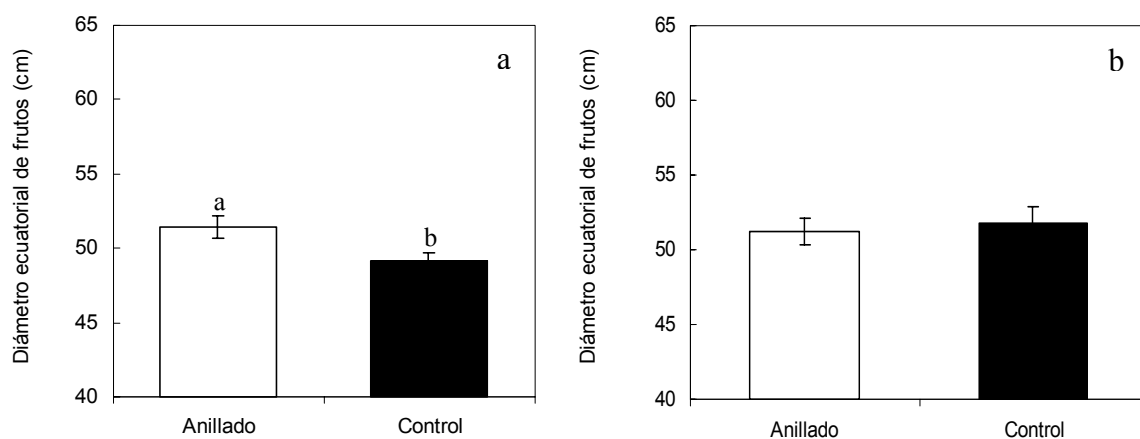
Sólo el diámetro polar del fruto fue afectado por el rayado (Figura 5.22). El diámetro ecuatorial, que es la principal medida para categorizar el calibre en muchos frutos, no presentó diferencias significativas por efecto del rayado de ramas en cualquiera de las dos fechas. Por otra parte, el anillado de ramas tampoco mostró tener un efecto significativo sobre el diámetro medio de los frutos (Figura 5.24). Aunque en la primera fecha de medición (Figura 5.23a) se apreció un moderado incremento, un mes después desapareció (Figura 5.23b).



**Figura 5.21.** Influencia de la fecha de rayado sobre la longitud de brotes, de los entrenudos y del número de yemas por brote del aguacate cv. 'Hass'. Fechas de rayado: 4 de noviembre y 10 de diciembre. Cada valor es la media de 20 mediciones. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Evaluación realizada el 25 de enero.



**Figura 5.22.** Efecto del rayado de ramas sobre el diámetro ecuatorial medio del fruto del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 20 mediciones. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Fechas de rayado: Fecha 1: 4 de noviembre; Fecha 2: 10 de diciembre. Fecha de medición: 25 de enero de 2006.



**Figura 5.23.** Efecto del anillado de ramas sobre el diámetro medio del fruto del aguacate cv. 'Hass'. Cada valor es la media de 20 frutos. Las barras verticales indican  $\pm$  ES. Fecha de medición: 13 de octubre (a) y 15 de noviembre (b).





## **IV. Discusión General**



## IV. Discusión General

---

### Fisiología del metabolismo de los carbohidratos en aguacate

El status general de carbohidratos en la planta y su demanda, así como el consumo por parte de los sumideros activos, regula el proceso fotosintético. En diferentes especies frutales se han encontrado evidencias del proceso de autorregulación de la actividad fotosintética a través de los carbohidratos. Así, en condiciones de baja demanda de carbohidratos, se ejecutan procesos de retroalimentación negativa de la fotosíntesis, identificándose la baja actividad de la Rubisco (ribulosa 1-5 difosfato carboxilasa oxigenasa) y la lenta liberación de fosfato inorgánico (Pi) como factores causantes de la merma en la fijación de CO<sub>2</sub> atmosférico debida a la acumulación de carbohidratos (Leegood, 1996; Paul y Pellny, 2003). De modo contrario, cuando existe una alta demanda de carbohidratos, por ejemplo durante el incremento del número de frutos en desarrollo, existe un estímulo de la actividad fotosintética como mecanismo natural para satisfacerla (Wünsche *et al.*, 2000; Quereix *et al.*, 2001; Iglesias *et al.*, 2002; Zhou y Quebedeaux, 2003; Urban *et al.*, 2004). Es mas, Lenz (1986) demostró en el manzano que la presencia del fruto constituye en si misma un aumento de la materia seca acumulada por el árbol en comparación en con los árboles sin frutos, a pesar de que éstos reducen la superficie foliar, lo que implica una mayor actividad fotosintética regida por la demanda de los frutos.

El aguacate no es una especie que se pueda calificar como convencional respecto del metabolismo de los carbohidratos. Dentro de los azúcares solubles encontrados en este estudio, destacan la presencia de 2 heptosas, la manoheptulosa y el perseitol, y la hexosa gluc-6-P.

La manoheptulosa y la manoheptulosa-P se pueden sintetizar por medio de la epimerización de la sedoheptulosa-7-P. Alternativamente, la ribosa-5-P puede ser canalizada hacia la síntesis de heptosas. Se ha visto, además, que la gluc-6-P, en presencia de las enzimas transcetolasas y transaldolasas, puede formar por si sola heptosas-P a una velocidad relativamente rápida, a pesar de no tener un aceptor como el gliceraldehído-3-P o la eritrosa-4-P (Datta y Racker, 1961). La presencia de manoheptulosa-P en hojas de aguacate sugiere que es el precursor directo de la

manoheptulosa libre en los diferentes tejidos. El aguacatero aparentemente transporta las heptosas con tanta libertad como las hexosas y sacarosa en otras especies, las cuales se forman en las hojas. La acumulación de manoheptulosa libre en los frutos de aguacate se debe probablemente, a su traslocación con las hexosas y sacarosa durante la fructificación y a la incapacidad de la planta de utilizar a ésta rápidamente como fuente de energía y de material para la formación de nuevos tejidos (Nordal y Benson, 1954).

La gluc-6-P, compuesto inicial de la vía glicolítica y del ciclo de las pentosas fosfato, tiene como compuestos intermediarios, en éste último, a la ribosa-5-P y la xilulosa-5-P. La sedoheptulosa-7-P se puede formar a partir de xilulosa-5-P y ribosa-5-P, también a partir de fruc-6-P y eritrosa-4-P, o directamente a partir de sedoheptulosa 1,7-bifosfato dentro del ciclo fotosintético de reducción del carbono o Ciclo de Calvin (Ribas-Carbó y González-Meler, 2000). Todas estas vías alternativas de producción de heptosas y de gluc-6-P explicarían las elevadas concentraciones de manoheptulosa, gluc-6-P y perseitol que se encontraron en la mayoría de los tejidos analizados. Este último azúcar, es el derivado polirol proveniente de la manoheptulosa, y por ello tiene características de azúcar de transporte.

En el seguimiento de un brote y su fruto (Capítulo 1), la manoheptulosa en hojas y brotes mostró un incremento gradual hasta que comenzó la primera brotación y el desarrollo acelerado del fruto, dos procesos que actúan como fuertes sumideros que compiten por fotoasimilados. Durante el período estival, la manoheptulosa producida por las hojas y la presente en otros órganos debe ser movilizada hacia la semilla, donde su concentración aumenta. Sin embargo, el desarrollo de la segunda brotación produjo un descenso generalizado de manoheptulosa en todos los tejidos del fruto, lo que muestra el fuerte poder sumidero que tiene esta segunda brotación frente al crecimiento y desarrollo del fruto. Es interesante destacar que es en este momento cuando culmina la segunda caída fisiológica de frutos. El fruto, hasta esta etapa, no parece ser lo suficientemente fuerte como sumidero frente al activo crecimiento vegetativo que se produce en los árboles.

Próximo al período de madurez del fruto, se produce un descenso en la concentración de manoheptulosa en los tejidos del fruto y en los brotes. En este período cercano a la madurez, la chalaza ejerce un control sobre la maduración del fruto. Estudios previos han relacionado la madurez del fruto con la degeneración de este tejido



(chalaza) (Scora *et al.*, 2002). En nuestro estudio, el comienzo de este proceso coincide con la disminución de manoheptulosa observada en los tejidos del fruto. El fruto de aguacate no madura en el árbol (Bower y Cutting, 1988). Sólo cuando el fruto se separa del árbol y el abastecimiento desde las fuentes, como los brotes, se acaba, puede iniciarse el proceso de maduración. Liu *et al.* (2002) señalan que el proceso de maduración del aguacate, que involucra el ablandamiento del fruto, producción de etileno y el alza respiratoria climatérica, procesos que ocurren sólo después de transcurridos varios días desde su recolección, no se produce hasta que los niveles de azúcares C7 disminuyan hasta un umbral de concentración de  $20 \text{ mg g}^{-1}$  PF. De hecho, el efecto de la recolección sobre la madurez puede ser reproducido por medio de un anillado del pedúnculo del fruto, provocando de igual forma la maduración en el árbol así como la simultánea disminución bajo un umbral límite de concentración de los azúcares C7. La manoheptulosa y perseitol, podrían, de esta forma, jugar un importante papel como inhibidores de la maduración con libre movilidad en el floema (Bower y Cutting, 1988; Liu *et al.*, 2002).

Dentro de este contexto, resulta intrigante que la manoheptulosa sea un potente inhibidor de las hexoquinasas y, por ello, de los procesos respiratorios glicolíticos (Board *et al.*, 1995; Leon y Sheen, 2003). En el aguacate, estos efectos de la manoheptulosa pueden ser necesarios para continuar la exportación de azúcares y la carga en el floema, para así sustentar el crecimiento de la fruta y su desarrollo.

Sin embargo, la semilla vuelve a experimentar un incremento significativo de la concentración de manoheptulosa durante un período de alrededor de un mes, justo en el momento de la madurez del fruto. Resulta interesante que la disminución abrupta que ocurre posteriormente en la semilla, tras alcanzar el fruto la madurez, se ve acompañada de un aumento casi en igual magnitud en el pedúnculo del fruto, lo que sugiere un transporte de manoheptulosa hacia otros órganos que en ese momento adquieren una condición de mayor poder sumidero, vislumbrándose de esta forma la importancia de este azúcar como metabolito intermediario y azúcar de transporte y de libre movimiento en la planta. De hecho, esto se ve apoyado por el hecho de que el perseitol, azúcar de transporte en el aguacate, presentó una tendencia similar a la manoheptulosa a lo largo del estudio, sugiriendo el papel de ambos azúcares en el transporte de carbohidratos, y explicando, en parte, la elevada proporción que tienen ambos azúcares dentro del total

de azúcares solubles presentes en esta especie. Tampoco resulta extraño la estrecha relación entre las concentraciones de manoheptulosa y de perseitol, considerando que este último es la forma poliol derivada de la manoheptulosa.

Por otra parte, también se observa en la figura mencionada un fuerte incremento del perseitol en la pulpa a partir de la segunda brotación. Lo mismo sucede con la manoheptulosa, la glucosa, la sedoheptulosa y la gluc-6-P. Este período estaría señalando un momento en el cual comienza a producirse una notable acumulación de reservas por parte de este tejido.

La necesidad de transformar elementos carbonados en energía para la producción de ácidos grasos es una condición que comienza antes de la madurez del fruto y continúa hasta muy avanzado en su desarrollo. En el aguacate, un fruto se considera maduro cuando ha alcanzado entre un 8% y un 10% de aceite en materia seca para cultivares de origen guatemalteco o mexicano, y entre un 3 y un 8% para cultivares de origen antillano (Whiley, 1994). Llegado a este punto, el fruto continúa acumulando lípidos, hasta que en variedades como la 'Fuerte', puede llegar a contenidos de aceite de un 20% o más. El cv 'Hass' alcanza menores contenidos, pero puede llegar a un 14%-15% de aceite permaneciendo en el árbol. Es así que, en este tipo de fruto que acumula aceites, necesita transformar una elevada cantidad de carbohidratos a lípidos.

La concentración de glucosa observada en los diferentes tejidos (hojas, brotes y fruto), en comparación con el resto de los azúcares, fue de menor importancia ( $<40 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ). Destaca el notable cambio que experimenta su concentración en el pedúnculo una vez que el fruto ha alcanzado la madurez fisiológica. A partir de este período, se apreció un significativo incremento de casi todos los azúcares encontrados en el fruto, con la excepción de la gluc-6-P. Este incremento de azúcares a nivel del pedúnculo, podría estar relacionado con la disminución, por una parte, del almidón en la semilla que se observa en este período (Figura 1.6), y que puede ser atribuida a una incipiente hidrólisis de almidón en este período de madurez del fruto, previo a la siguiente floración. El aumento de los otros azúcares en el pedúnculo coincide con un aumento en todos los azúcares a nivel del brote, pero en mayor magnitud, de sacarosa y de perseitol, lo que sugiere un cese de la actividad sumidero del fruto ya maduro, y un transporte de carbohidratos hacia otros sumideros como los brotes que están preparándose para florecer en poco tiempo más.

El almidón es una fuente de carbohidratos de reserva en el aguacate (Figura 1.6). Desde el período previo a la floración, existe en los brotes una elevada concentración de almidón, máxima en pleno invierno, que va declinando gradualmente hasta la segunda brotación vegetativa, indicando que su aporte es significativo para el proceso de floración y primer crecimiento vegetativo. El crecimiento lineal del fruto ocurre en el período entre las dos brotaciones, por lo que probablemente el almidón de los brotes constituye un pequeño aporte en su desarrollo. A partir del segundo período de crecimiento vegetativo, no obstante, los brotes comienzan a acumular nuevamente almidón, porque deben prepararse para el siguiente ciclo de floración y brotación. En el fruto, por su parte, destaca que la acumulación de almidón en la semilla resulta significativa solo a partir del segundo crecimiento vegetativo coincidiendo con el final de la etapa lineal de crecimiento del fruto. En ésta el fruto acumula carbohidratos y, por tanto, su disponibilidad para almacenarlos disminuye; solamente cuando cesa su crecimiento la acumulación (almidón) resulta evidente.

Otro aspecto a destacar es el comportamiento de la sedoheptulosa. Esta presentó una tendencia prácticamente equivalente a la observada para la glucosa, pero con concentraciones casi el doble, durante todo el período de estudio (ver Figuras 1.2 y 1.4). Como ya se dijo, la sedoheptulosa-7-P es un intermediario en el Ciclo de Calvin. Sin embargo, también participa en el ciclo de las pentosas fosfatos, produciendo mediante una reacción mediada por una transaldolasa, fruc-6-P. De esta forma, mediante este paso, puede convertirse progresivamente en gluc-6-P, gluc-1-P, UDP-gluc. El siguiente paso, sería la formación de sacarosa fosfato o la utilización de la UDP glucosa en la formación de paredes celulares. Si el destino fuera exclusivamente la formación de sacarosa fosfato, que luego puede originar sacarosa, y finalmente glucosa y fructosa, estos dos productos finales se acumularían en los tejidos, debido al efecto inhibitorio que posee la sedoheptulosa, sobre las hexoquinasas que deben mediar en la utilización de ambos azúcares, glucosa y fructosa, en la glicólisis. Por los elevados requerimientos energéticos que tiene esta especie por la necesidad de producir lípidos, la vía de las pentosas fosfatos es preponderante, deducido además por la elevadísima concentración de gluc-6-P presente en los tejidos. Por lo tanto, si la relación entre la sedoheptulosa que participa en la vía de las pentosas y la glucosa, pasa por la formación y posterior acumulación de la glucosa y fructosa como productos finales, sus concentraciones en los tejidos debiera ser muy elevada, situación que no se observa. Queda sin poderse

aclarar en este estudio la procedencia de la glucosa analizada cromatográficamente, ya que puede provenir de la hidrólisis del almidón (ADP-glucosa) o de la hidrólisis de la sacarosa, o de la existencia de UDP-gluc en la cadena de síntesis de la sacarosa. La sedoheptulosa producida como intermediario durante el ciclo de las pentosas, podría estar originando glucosa y fructosa como productos finales, con liberación de Pi. Sin embargo, el hecho de que fue imposible separar cromatográficamente la sedoheptulosa de la fructosa, impide hacer un balance detallado a nivel estequiométrico de las reacciones involucradas para evaluar el grado de participación de cada uno de los azúcares.

Se ha señalado que la manoheptulosa tiene un efecto inhibitorio sobre las hexoquinasas. Por ello, resulta improbable que el punto de partida de la glicólisis, la fruc-6-P, provenga de la fosforilación de la glucosa o fructosa obtenidas a partir de la sacarosa, como ocurre en la mayor parte de las plantas conocidas. Sin embargo, la formación de hexosas a partir del Ciclo de Calvin en los cloroplastos da paso a la formación de triosas-fosfatos y otros intermediarios, los cuales pueden derivar a fruc-6-P. Ello explicaría la baja concentración de sacarosa encontrada en los diferentes órganos del aguacate, en particular, considerando la elevada concentración de azúcares totales presente en esta especie. Por ello, se puede suponer que la sacarosa, en el aguacate, no es fundamental en el suministro de energía y metabolitos intermediarios para la síntesis de otros compuestos. En la Figura 2.4 se aprecia cómo la eliminación del fruto incrementa, en cada fecha de desfrute, los contenidos de sacarosa en hojas y brotes, indicando que al eliminar el fruto cesa su transporte. La disminución que se aprecia hacia finales de otoño se puede relacionar con una disminución de la capacidad fotosintética, ya reportada con anterioridad Whiley *et al.* (1999).

La fruc-6-P es interconvertible con la gluc-6-P a través de la enzima fosfoglucomutasa. En casi todas las muestras de aguacate, se presentaron cantidades importantes de este azúcar, lo que llevaría a pensar que, por alguna razón, esta especie utiliza a la gluc-6-P como azúcar clave en la interconexión de sus rutas metabólicas tales como formación de azúcares en el ciclo fotosintético de reducción del carbono (Ciclo de Calvin), glicólisis, y vía de las pentosas fosfatos.

Las Figuras 1.1, 3.1 y 4.1 muestran como la gluc-6-P sería un abastecedor de los requerimientos energéticos de la segunda brotación, al disminuir su concentración tanto

en hojas como en brotes durante su desarrollo. También destaca como el proceso de maduración, y específicamente el climaterio del fruto, eleva las concentraciones de este azúcar en hojas, brotes, pedúnculo, e incluso levemente en la pulpa+piel, aun cuando en este período su contenido de azúcares disminuye notoriamente al ser transformados por diversas rutas a compuestos intermediarios y lípidos. En este período de climaterio se liberan una serie de compuestos producto del catabolismo de diferentes metabolitos intermediarios, para derivarlos finalmente a la vía glicolítica en el proceso de respiración. También destaca la elevada concentración de gluc-6-P en la semilla (Figura 1.1) en el período entre brotaciones. La primera brotación vegetativa estaría sustentando la acumulación de este azúcar, que es precursor del almidón, en la semilla durante el período de crecimiento acelerado del fruto. La disminución de la glucosa-6-P en la semilla en esta última fase y el aumento de su concentración de almidón (Figura 1.6) ratifican esta idea.

Por otra parte, la intensidad de floración modificó la concentración detectada de los azúcares de transporte en las diferentes fechas analizadas (Capítulo 3).

La concentración de gluc-6-P se observó dependiente de la relación fuente sumidero según las intensidades de floración (Figura 3.1). Así, durante la floración y primer crecimiento vegetativo, su concentración fue elevada y disminuyó progresivamente a medida que se abastecían los requerimientos necesarios para llevar a cabo estos procesos, y en particular se presentó una mayor concentración foliar en el tratamiento AF respecto de MF. Pero la segunda brotación vegetativa, coincidente con la fecha T3 de desfrute, provocó una disminución abrupta de su contenido foliar en estos mismos tratamientos, indicando la dependencia de este evento de los carbohidratos presentes hasta esta fecha. Luego, estos tratamientos vuelven a comenzar a acumular gluc-6-P, coincidiendo con los requerimientos que está presentando la fruta respecto de su necesidad de abastecerse de una cantidad adecuada de carbohidratos y, por otra parte, de tener suficiente energía para poder transformarlos a lípidos en el proceso de la maduración del fruto. Si se observa el comportamiento del tratamiento BF, se ve exactamente la tendencia opuesta, lo que pone de manifiesto cómo el proceso de producción en esta especie es cíclico, alternante, y que los brotes de BF, sin presencia de fruta, estarían comenzando la temporada con una brotación de gran magnitud y que sería abastecedora neta de energía (fuente), en este de caso gluc-6-P,

pero que además es el mismo comportamiento para la manoheptulosa y el perseitol, productos directos del Ciclo de Calvin, que estarían siendo metabolizados finalmente a estos dos azúcares para ser transportados libremente por la planta, para ya sea ser almacenados o ser utilizados en el mayor sumidero presente, que para este tratamiento sin frutos corresponde solamente al crecimiento y desarrollo del brote hasta sus siguientes floración y brotación.

La sedoheptulosa (Figura 3.5), aun cuando también es un producto directo del Ciclo de Calvin, presenta un comportamiento totalmente diferente. En hojas, no existió una clara diferencia a nivel de intensidades de floración hasta llegada la segunda brotación vegetativa, probablemente debido a que se requiere su rápida transformación a otros azúcares más importantes en el abastecimiento de energía. A partir de este segundo crecimiento vegetativo, se originó, sin embargo, un incremento que alcanzó su punto máximo justo en el momento de madurez del fruto (T5), cuando las concentraciones fueron mayores en los tratamientos con fruta, siendo la MF la que presentó la mayor concentración. Los requerimientos de carbohidratos durante todo el período comprendido entre la floración y la segunda brotación (T4), son notablemente elevados, contemplando tanto los dos períodos de brotación como también el crecimiento lineal del fruto, y explica el constante descenso observado en todos los tratamientos, ya que o florecían abundantemente (AF), o florecían y brotaban (MF), o brotaban profusamente (BF). Sin embargo fue sólo a partir de la segunda brotación cuando los tratamientos con fruta se diferencian del de BF en sus concentraciones foliares de sedoheptulosa, presentando un incremento y mayores concentraciones de este azúcar, y que, como ya ha sido reportado por numerosos autores, podría ser explicado por un efecto “feedback” estimulador de la fotosíntesis por la presencia del fruto. En los brotes, se observó el mismo comportamiento en este azúcar, presentando nuevamente los tratamientos con presencia de fruto, las mayores concentraciones. Cabe destacar, que la sedoheptulosa coincidió nuevamente con el comportamiento de la glucosa. Podría sugerirse que es a partir de esta fecha en la cual el fruto tendría un efecto sobre el control de la producción primaria o directa de fotoasimilados representados por la sedoheptulosa.

Los frutos partenocárpicos presentaron, en general, menores concentraciones para la mayoría de los azúcares analizados, lo que pone de manifiesto su menor poder

sumidero frente a los frutos que presentan semilla. Considerando que el orden de prioridad de la demanda es función de la tasa de crecimiento (actividad del sumidero) y del tamaño del sumidero (número de frutos), y que el orden, generalmente, es: semilla > pulpa de los frutos = ápices de brotes y hojas > cambium > raíces > tejidos de almacenamiento (Wolstenholme, 1990), no resulta extraño que los frutos partenocárpicos presenten menores concentraciones en gran parte de los azúcares.

Nuevamente, y para el caso de intensidades de floración distintas, la glucosa (Figura 3.3) mostró una tendencia prácticamente idéntica a la sedoheptulosa, por lo que se mantiene la incógnita de su procedencia y su papel metabólico. Por otra parte, la glucosa presentó tendencias opuestas a la sacarosa (Figura 3.2), lo que podría indicar que la primera proviene de la hidrólisis de la segunda. Durante la primera brotación ninguna de las intensidades de floración alteró la tendencia al incremento de la sacarosa foliar, debido probablemente a que dicha brotación se sostiene, básicamente, por reservas generadas previamente a la brotación. Sin embargo, la segunda brotación, en particular para aquellos árboles que poseen frutos, presentó una fuerte caída de sacarosa foliar, compatible con los requerimientos en glucosa del crecimiento vegetativo y de los frutos.

Resulta de interés el efecto de las diferentes intensidades de floración sobre la concentración de almidón, tanto foliar como de los brotes. Así, la ausencia de frutos (BF) permite que sea durante el desarrollo de la segunda brotación cuando se acumule gran parte del contenido total de almidón de los brotes, necesario para la siguiente floración y brotación. Destaca la diferencia de almidón en los brotes de los tratamientos BF y MF previo al momento de floración, lo que coincide con la mayor presencia de flores en estos tratamientos en la nueva temporada.

El aumento de la concentración de manoheptulosa a comienzos de temporada coincide con tres efectos sumideros que acontecen casi al mismo tiempo, el desarrollo de la floración, la primera brotación y el comienzo del crecimiento lineal del fruto. La disponibilidad de manoheptulosa en las hojas, así como en los brotes, se incrementa significativamente e inclusive alcanza mayores concentraciones en los brotes comparado a las hojas, lo que sugiere la transformación de otras formas de azúcares a ésta. Destaca que en el momento de la maduración del fruto, son los tratamientos que florecerán con mayor intensidad en la siguiente temporada (BF y MF) los que

presentaron una mayor concentración de manoheptulosa foliar. Sin embargo, el comportamiento en los brotes hace pensar que la manoheptulosa, hasta la fecha T3 de disfrute, predomina en los tratamientos sin frutos o sumideros que reclaman y consumen este azúcar, pero es a partir de T3 cuando esta tendencia se invierte. El hecho de que durante la temporada de crecimiento, los tratamientos de AF prácticamente no brotaron, y MF lo hizo de manera moderada, podría explicar esta mayor disponibilidad de manoheptulosa a partir de que han cesado los fuertes sumideros del crecimiento lineal de frutos y la segunda brotación vegetativa, prácticamente inexistente o muy baja en los tratamientos con fruto. De acuerdo con nuestros resultados, la manoheptulosa está relacionada con el abastecimiento de carbohidratos en los momentos de fuerte demanda.

La intensidad de floración resultó ser un factor determinante en el crecimiento vegetativo del aguacate. Los parámetros de brotación se vieron fuertemente afectados por la expresión de la floración. De hecho, la AF redujo significativamente la brotación y el crecimiento vegetativo durante dos años consecutivos, mientras que la BF y la MF presentaron brotaciones estables en el tiempo. El gasto energético y el estrés que implicó la AF resultaron en una inhibición significativa de la brotación (Figura 3.15).

El calibre de la fruta se vio influido tanto por la luminosidad como por la intensidad de floración. Sin embargo, el efecto fue tan solo transitorio, ya que se apreció básicamente cuando había terminado el crecimiento lineal del fruto, momento en el cual se había logrado la máxima diferencia entre los frutos con mayor abastecimiento de agua, fotoasimilados y sustancias minerales, en comparación con los sombreados. Sin embargo, como esta especie presenta la peculiaridad de que el fruto mantiene un crecimiento en división y elongación celular durante todo su desarrollo, aún cuando ya ha alcanzado el período de maduración, logró compensar con ello las diferencias producidas por el sombreado. No obstante, la diferencia en tamaño del fruto evidenciada por las diferentes intensidades de floración parece tener un efecto más definitivo. Así, las diferencias significativas de calibre encontradas entre las dos intensidades menores de floración y la AF fueron evidentes hasta prácticamente el período de madurez del fruto. Esto concuerda con lo señalado por Richings *et al.* (2000), quienes estudiando el comportamiento del fenotipo de frutos pequeños en aguacate, relacionan la disminución



del tamaño con el incremento de la respiración y un alza en el metabolismo del ABA tanto en la semilla como en el mesocarpo.

Nuestros resultados evidenciaron un notable incremento en el contenido de ABA en los brotes fructíferos de los árboles de AF, en comparación a las otras dos intensidades de floración. Estos presentaron los menores tamaños de fruta, lo que señala al ABA como factor retardador del crecimiento del fruto, tal como han señalado otros autores (Richings *et al.*, 2000). El incremento de la concentración de ABA en el fruto se ha relacionado con un incremento en la concentración de glucosa, la cual estaría modulando la expresión de la principal enzima relacionada con el crecimiento del fruto, la HMGR. Según Richings *et al.* (2000), un elevado contenido de ABA y una actividad disminuida de esta enzima son responsables de la disminución del tamaño potencial del fruto.

Cuando se analiza el efecto de la luminosidad (Capítulo 4) sobre la concentración de manoheptulosa y perseitol (por ej. Figuras 4.4 y 4.6), destaca que en los períodos comprendidos entre las dos brotaciones vegetativas, durante el verano, ésta es mayor en las hojas de los brotes iluminados, pero tras el segundo período de crecimiento vegetativo, y hasta el período de floración, son los brotes sombreados los que poseen una mayor concentración de estos azúcares de transporte. Se puede sugerir que, durante el invierno y previo a la floración, los brotes sombríos serían exportadores netos de fotoasimilados que irán destinados a los iluminados, los cuales florecerán en la siguiente temporada. Una vez desarrollada la primera brotación, los brotes iluminados pasan a tener fructificación, normalmente, y con ello ejercen un fuerte estímulo de la fotosíntesis en sus hojas ya maduras que pasan a ser fuentes de fotoasimilados., para satisfacer los requerimientos del fuerte sumidero presente en el brote, el fruto.

La segunda brotación representa, en todos los casos, una fuerte disminución de los azúcares de transporte, que ya en este período tienen dos fuertes sumideros, los frutos en avanzado estado de desarrollo, pero con elevadas necesidades de energía y poder reductor (NADPH) para la síntesis de lípidos, y la propia brotación. Los nuevos brotes comienzan a presentar menores concentraciones de azúcares de transporte que los sombreados, que siguen siendo exportadores netos. De este modo, este segundo período de crecimiento vegetativo, que además coincide con el final de la segunda caída

fisiológica de frutos, se convierte en un punto clave de regulación del metabolismo de los carbohidratos en el aguacate.

Por otra parte, debe considerarse que las hojas, con el transcurso del invierno, pierden eficiencia fotosintética, y en modo más acusado justo en el momento en que la demanda de asimilados es crítica. Whiley *et al.* (1992) han señalado que hasta el final de la primera brotación vegetativa (primavera), cuando el fruto ha alcanzado un tamaño entre 12 y 15 g de peso seco, hay suficiente luz en las condiciones de un día libre de nubes como para soportar la fotosíntesis exigida por el fruto a sus hojas más próximas. Sin embargo, cuando el crecimiento de la brotación de verano se ha completado (segunda brotación vegetativa) la luz en la zona de fructificación es insuficiente para soportar la actividad fotosintética exigida por el fruto (Whiley *et al.*, 1988b). En este estado del desarrollo del fruto, son las hojas de toda la copa las que proveen los requerimientos de fotoasimilados para el crecimiento del fruto.

Nuevamente, y en relación a la luz, la sedoheptulosa presentó un comportamiento prácticamente idéntico a la glucosa. La luminosidad permitió mayores contenidos de sedoheptulosa en los brotes en prácticamente todo el período de evaluación, respecto de los brotes sombríos. Se volvió a corroborar la elevada participación e importancia que tiene este azúcar, junto a la glucosa, en el período previo a la floración (T5) y en ésta misma. Un análisis generalizado del contenido de azúcares en las flores evidenció, sin embargo, que los azúcares de mayor importancia en el tejido floral del aguacate son la manoheptulosa, perseitol, gluc-6-P y, en menor cuantía, la sedoheptulosa, lo que confirmaría que los azúcares C7 serían, incluso en el tejido floral, predominantes en esta especie.

Destaca también como la presencia de flores en los brotes iluminados influye en la concentración de sus azúcares, y en particular en la concentración de manoheptulosa y perseitol, que se reduce e incrementa, respectivamente, en los brotes que no tienen flores. Esto evidencia la conversión de manoheptulosa en perseitol para ser movilizado hacia los brotes que tienen flores, y que son mayores sumideros.

El almidón también mostró una influencia de la luminosidad en sus concentraciones, siendo los brotes iluminados los que presentaron las mayores concentraciones, en particular en el período invernal y de floración. Scholefield *et al.* (1985) ya habían señalado que justo antes de la floración, en primavera, se encuentran

los valores más elevados de carbohidratos de reserva (almidón) en las ramas más jóvenes, mientras que durante el período de diferenciación de las yemas de flor, en otoño, se encuentran los más bajos. Nuestros resultados evidenciaron, sin embargo, que los brotes sombríos manifiestan elevadas concentraciones de carbohidratos solubles (manoheptulosa, perseitol y gluc-6-P) durante este período.

### **El fruto y su influencia inhibitoria de la floración a lo largo de un ciclo productivo**

Se ha sugerido que la influencia que ejerce el fruto sobre la floración se debe a la reducción de la brotación de verano y otoño, disminuyendo de esta forma el número de nudos y, por esta razón, el número de inflorescencias producidas la siguiente primavera. Estudios previos en aguacate ya habían demostrado un efecto represivo de la carga frutal sobre el desarrollo de las inflorescencias (Davenport, 1986).

Sin embargo, la posibilidad de que el fruto inhiba la transición del ápice de vegetativo a floral no puede ser excluida (Paz-Vega, 1997). Este efecto se atribuye a un componente hormonal, el cual viene desde los frutos en desarrollo, ejerciendo su efecto sobre las yemas adyacentes (Golschmidt y Samach, 2004), y consecuentemente, sobre los meristemos los cuales verían interrumpida su tendencia espontánea a florecer (Martínez-Fuentes *et al.*, 2004; Goldschmidt y Samach, 2004). Sin embargo, muchos estudios en árboles frutales han mostrado que las reservas de carbohidratos están relacionadas con la carga frutal y la cosecha, y todo ello con la floración (Monselise y Goldschmidt, 1982).

Un aspecto novedoso de nuestro estudio y de gran interés agronómico es la determinación del momento durante el cual el fruto ejerce su acción inhibitoria sobre la floración. Nuestros resultados demuestran que ésta persiste mientras el fruto permanece en el árbol, pero es más intensa durante sus primeras fases de crecimiento (T2). Este tratamiento (On T2) presentó una mayor intensidad de floración que el tratamiento de disfrute On T1. De acuerdo con nuestros resultados, mantener la fruta por un mayor tiempo en el árbol debería implicar un mayor efecto inhibitorio sobre la floración siguiente, sin embargo, el tratamiento On T1 tuvo una menor floración. Esta aparente contradicción se debe a que el tratamiento de disfrute llevado a cabo en T1 dio lugar a una floración incipiente en otoño (datos no mostrados), que hizo inviable en esos brotes

la floración de primavera. El tratamiento T1 no ha sido considerado en nuestro estudio, dado el efecto que su anticipada floración pudiera tener sobre los parámetros estudiados, incluyendo la respuesta en la siguiente floración. La acción inhibitoria del fruto sobre la floración siguiente cesa a partir del momento en que completa su crecimiento lineal, y el desfrute en T4 ya se mostró ineficaz.

En general, los altos contenidos foliares de azúcares de seis carbonos en T5 coincide con una elevada demanda de los procesos de floración y brotación. El activo crecimiento vegetativo, que en el aguacate ocurre paralelamente al proceso de floración, es altamente demandante en carbohidratos como fuente de energía. El constante incremento encontrado para la gluc-6-P después de cada tratamiento de desfrute es consecuencia del cese de la demanda por el fruto y causa del incremento de la disponibilidad de energía necesaria para lo siguientes procesos de floración y brotación.

La elevada proporción de gluc-6-P encontrada en las hojas y brotes sugiere que los azúcares solubles y reservas serían, a través de vías metabólicas como la de las pentosas fosfatos, transformados hasta gluc-6-P y de esta forma incluidos en la vía glicolítica, debido a la incapacidad que confiere la presencia de manoheptulosa de fosforilar directamente la glucosa o la fructosa por las hexoquinasas. Así, nuestro estudio sugiere que la gluc-6-P corresponde a un importante grupo de compuestos carboxílicos intermediarios existentes en el metabolismo de los carbohidratos en el aguacate. La elevada proporción de gluc-6-P encontrada en hojas y brotes también es coherente con el incremento de almidón en los brotes de las plantas de BF (Figura 3.7) con tendencia a elevar su floración y resalta el papel de las reservas en el proceso.

Estudios previos también han evidenciado que árboles con altas producciones poseen un escaso desarrollo vegetativo. Inversamente, árboles con bajas producciones producen un elevado número de brotes vegetativos (Salazar-García *et.al.*, 1998). Este hecho concuerda con el mayor efecto positivo sobre la floración de los desfrutes realizados en fechas tempranas post floración. En efecto, ello conlleva un mayor crecimiento vegetativo en las brotaciones de verano y otoño, debido a una falta de otros sumideros y la mayor disponibilidad de nutrientes y carbohidratos, como la gluc-6-P, perseitol y manoheptulosa. Un adecuado crecimiento vegetativo asegura un número de yemas suficientes capaces de ser inducidas a flor. Además, estos brotes continuarán en invierno con actividad fotosintética, y de esta forma, la planta es capaz de abastecer de

carbohidratos al fruto en crecimiento, y almacenar reservas para los siguientes procesos de floración y brotación (Liu *et al.*, 2002). Los tratamientos de desfrute mostraron diferencias en los contenidos de almidón, en particular en la fecha T4. En ella, los árboles que tuvieron los contenidos más bajos de almidón en las hojas y los más altos contenidos en los brotes mostraron los índices más altos de floración en la primavera siguiente. El éxito del proceso involucrado en la siguiente floración de la planta requiere, por tanto, de la acumulación de almidón en los brotes y el tratamiento T4 se muestra como la fecha crítica para alcanzar adecuados contenidos que sustenten ese proceso.

Como ya se ha mencionado, los azúcares C7 representan la forma predominante de azúcares no estructurales en los tejidos de aguacate, y son no sólo importantes reservas de almacenamiento en el árbol, sino que además son productos móviles en el floema de la fijación primaria de CO<sub>2</sub>. En nuestro estudio, los azúcares predominantes detectados en los tejidos de aguacate en árboles sujetos a la eliminación del fruto y sin ella fueron gluc-6-P, sacarosa, manohexulosa y perseitol, lo cual sugiere que ambos tipos de azúcares, C6 y C7, son responsables de las contribuciones energéticas requeridas por los procesos activos y energéticamente demandantes como la brotación y floración. Más aún, según Salazar *et al.* (1998) la expansión del brote floral en primavera es ya visible en enero, aunque la inducción floral ha ocurrido varios meses antes. De esta forma, los fotoasimilados inmediatamente fijados y las reservas almacenadas en los brotes podrían jugar un papel importante en los procesos de inducción y diferenciación floral, y en el desarrollo de las panículas.

El fuerte aumento de los contenidos de azúcares C7 en las hojas en los árboles control (Figura 2.2) indica la elevada capacidad sumidero de los frutos recién cuajados. Como consecuencia de la presencia del fruto, ocurre un aumento en la actividad fotosintética en las hojas (Schaffer *et al.*, 1987), y esto se puede ver en el incrementado contenido de azúcares C7 producidos directamente por la fotosíntesis de las hojas.

Modificaciones de la relación fuente-sumidero podrían acarrear una acumulación de almidón en los cloroplastos (Herold, 1980). Acumulaciones de almidón como resultado de una disminución en la actividad sumidero han sido observadas, por ejemplo, en árboles desfrutados (Claussen y Lenz, 1983). En nuestro estudio, la acumulación de almidón en los tratamientos de desfrute tuvo un máximo de un 34% de

incremento en comparación con los controles en la fecha T5 (madurez de la fruta), similar a lo reportado en cítricos (Schaffer *et al.*, 1986). Pero este incremento de la concentración no tuvo correlación con los contenidos de clorofila, y en consecuencia, con la clorosis gradual observada a través del tiempo hasta la madurez de la fruta. Esta clorosis observada en los tratamientos de mayor intensidad de floración y la fuerte correlación encontrada entre los contenidos de clorofila y los parámetros de floración en casi todas las fechas, sugiere que la degeneración de la clorofila estaría relacionada con la floración, y descarta que sea un exceso de carbohidratos la causa directa. Stewart y Wheaton (1967) sugirieron en un estudio con la utilización de anillado que este tipo de clorosis es causada por una deficiencia de nitrógeno a través de los cambios que produce el anillado sobre el metabolismo del nitrógeno Stewart *et al.* (1968).

### **Metabolismo de los compuestos nitrogenados en aguacate**

Las hojas y los brotes iluminados presentaron mayores contenidos de amonio sólo en el período invernal y previo a la floración. Además, los brotes iluminados, en este mismo período, mostraron los mayores contenidos de azúcares (almidón, sacarosa, glucosa y sedoheptulosa). La luz es la principal señal que controla la síntesis de la enzima nitrato reductasa (NR) y de la nitrito reductasa (NiR), relacionadas con la reducción del ión nitrato. Según Maldonado *et al.* (2000), el efecto estimulador de la luz está mediado por el fitocromo y a través de productos de la fijación fotosintética del CO<sub>2</sub>. De hecho, la inducción de la transcripción de los genes de ambas enzimas parece estar regulada por el balance interno entre azúcares solubles y aminoácidos, lo que constituye una prueba de que el metabolismo del nitrógeno y del carbono están regulados entre sí. Aún cuando en nuestro estudio no se analizó la actividad de estas enzimas, los resultados coinciden con lo señalado por Maldonado *et al.*, (2000), y sugieren un estímulo de la luz en la reducción del nitrato, observando como una mayor concentración de amonio en este período. La luz, a través del contenido en carbohidratos de las hojas, podría de esta forma estar modulando la expresión de la NR en aguacate. Este tema merece ser estudiado con mayor profundidad en el futuro, debido a la importancia que se ha visto tiene el ión NH<sub>4</sub><sup>+</sup> durante el período de floración del aguacate.

De acuerdo con nuestros resultados, la presencia de flores estuvo asociada siempre a un mayor contenido de amonio en las hojas, y a un menor contenido en los brotes. De hecho, el tejido floral tiene un elevado contenido en este ión (Figura 3.9), lo que coincide con las concentraciones encontradas en brotes en invierno, previo al momento de floración. Considerando diferentes intensidades de floración, también resultó evidente que una AF presenta un mayor contenido de amonio, específicamente en los brotes (Figura 1.8). Destaca por ello la elevada demanda que tiene la floración respecto del ión amonio. También destaca la mayor concentración de amonio detectada en las hojas y en los brotes que contienen frutos partenocárpicos, aún cuando éstos presentaron menores cantidades de azúcares en general. Este comportamiento podría estar relacionado con la ausencia de semilla y de chalaza, y por ello con una menor demanda del fruto por amonio, comportamiento que ya se discutió anteriormente. Así se explica la acumulación del ión amonio tanto en las hojas como en los brotes, sin existir sumideros fuertes que utilizasen este elemento. Ello queda ratificado por el estímulo en el contenido de amonio durante el período invernal en los brotes a los que se les había eliminado el fruto, y estos brotes florecieron más intensamente. De hecho, todos los tratamientos de desfrute presentaron mayor contenido de amonio y mayor floración que el control.

Los nitratos presentaron un comportamiento opuesto al del amonio. Así, la presencia de flores en brotes iluminados estuvo asociada a una disminución en los contenidos de nitratos, lo que pone de manifiesto los elevados requerimientos de éstas en amonio. En general, el contenido de nitratos fue bajo en todos los ensayos y en todos los órganos.

El análisis de los contenidos de amonio y nitrato en todos los órganos de la planta, evidenció una elevada concentración de amonio en la chalaza de la semilla. Esta fue decreciendo hasta la segunda brotación vegetativa, cuando alcanzó valores de amonio mínimos. Las concentraciones que presenta son superiores a las observadas en muchos de los órganos analizados, y durante el mismo período el pedúnculo transporta una elevada concentración al fruto, sin que ello tenga ningún reflejo en la pulpa o la semilla. La exigencia de iones amonio específicamente por parte de la chalaza es, por tanto, evidente.

La chalaza constituye un sistema vascularizado que permite abastecer de elementos hormonales, minerales y nutrientes a la semilla y al embrión, por lo que su importancia para la sobrevivencia de éste es relevante. De hecho, se ha relacionado su integridad y funcionamiento con el desarrollo normal del fruto y con su grado de madurez. Con su cambio de color y degeneración, las conexiones vasculares se pierden y con esto también se detiene el crecimiento de la semilla (Scora *et al.*, 2002). Nuestros resultados demuestran como al terminar el crecimiento lineal del fruto, momento que coincide con las concentraciones más bajas de amonio en la chalaza, comienza un nuevo incremento en la concentración de este ión, tanto en la chalaza como en hojas y brotes. Al cesar el crecimiento del fruto, se produce una pequeña acumulación de amonio que finaliza cuando comienza su maduración, y con ello la degeneración de este tejido (enero).

El contenido en nitrógeno proteico de hojas y brotes también se vio influido por la luminosidad en el período invernal previo a la floración y durante el período de floración. En los brotes, aun cuando su concentración de nitrógeno proteico fue menor que en las hojas, resultó más evidente la diferencia entre brotes iluminados y sombríos, siendo mayor en los iluminados (Figura 4.15). Esto confirma que existe una mayor demanda de estos compuestos nitrogenados para el desarrollo de la floración y brotación, eventos que se expresan en mucha mayor magnitud en los brotes iluminados del árbol, como ya se ha analizado anteriormente. La presencia de flores también influyó sobre la concentración de N-proteico foliar, presentando también los brotes iluminados un mayor porcentaje con la presencia de flores. Esta diferencia no existe en las hojas de brotes sombríos y en los brotes completos, con o sin flores, probablemente debido a la escasa magnitud de floración que en ellos se observó.

La formación de compuestos proteicos se realiza mayoritariamente en las hojas, por lo que la concentración de N-proteico detectada en los brotes es menor (prácticamente la mitad), y puede ser consecuencia de la existencia y movilización de compuestos proteicos necesarios en el metabolismo, como enzimas y otros compuestos, presentes en todo tejido vegetal. Con la eliminación del fruto, sin embargo, se induce una disminución del nitrógeno proteico en las hojas y un leve incremento en los brotes de los tratamientos que indujeron una mayor floración (Figura 2.10). Esto se confirma en la Figura 3.11 con diferentes intensidades de floración, ya que en las hojas, el tratamiento AF finaliza la primera temporada con concentraciones mucho menores que



los de MF y BF, que son los que presentan mayor floración en la temporada siguiente. El comportamiento de los brotes no debe tenerse en cuenta dada la reducida concentración de N-proteico.

Los contenidos de proteínas totales solubles (PTS) en las hojas, medidos en la fecha T5, son mayores en los tratamientos que muestran las mayores respuestas de floración. Ello sugiere que estos tratamientos tuvieron una mejor expresión de la brotación, y específicamente de la constitución de las hojas. La relación que ello podría tener con la floración siguiente requiere de un estudio adicional, por lo que no puede ser discutido a partir de nuestros resultados.

Así como los elementos nitrogenados mostraron una estrecha correlación con los parámetros de floración evaluados en los ensayos con eliminación del fruto, y se comprobó su significativo requerimiento en la época de floración, resultó también evidente una correlación significativa entre el nitrógeno en sus diferentes fracciones con los contenidos en clorofilas totales en las hojas, aunque con mayor significación en el amonio y el N-proteico. La clorosis gradual observada en los tratamientos responsables de una mayor intensidad de floración y la fuerte correlación encontrada entre los contenidos de clorofila y los parámetros de floración en casi todas las fechas, sugiere que la degradación de clorofilas podría estar relacionada con la floración, al mismo tiempo que descarta que fuera un exceso de carbohidratos la causa directa de la misma, como ya se analizó anteriormente. Stewart y Wheaton (1967) sugieren en un estudio con la utilización de anillado que este tipo de clorosis es causada por una deficiencia de nitrógeno consecuencia de los cambios que produce el anillado sobre el metabolismo del nitrógeno Stewart *et al.* (1968). De acuerdo con ello, nuestros resultados sugieren que el ión amonio y el nitrógeno proteico tendrían un papel importante en la floración como fuentes de nitrógeno.

La estrecha relación entre la presencia de flores y frutos y los contenidos en clorofila, y su efecto sobre las fracciones nitrogenadas se confirma con el hecho de que entre las tres intensidades de floración evaluadas en el Capítulo 3, la BF fue la que presentó los mayores contenidos en clorofilas durante el período de la primera brotación, seguida por la MF y la AF. Una vez desarrollado plenamente este brote, comienza la acumulación de amonio en el brote que florecerá, y cuanto mayor sea esta acumulación, más intensa será la floración, como ya se vio anteriormente. Por ello, los

árboles de BF, que son los que florecieron más intensamente la primavera siguiente, presentan una mayor disminución de clorofilas a partir de la segunda brotación, seguidos por la MF.

### **Factores Ecofisiológicos relacionados con el estrés y la floración en aguacate**

El contenido en clorofila total de las hojas puede ser determinado a través de análisis químicos (Inskeep y Bloom, 1985; Moran y Porath, 1979; Moran, 1982) o mediante procedimientos indirectos no destructivos (Intrigliolo *et al.*, 2000; Duce *et al.*, 1997; Jifon y Syvertsen, 2002; Roccuzzo *et al.*, 2000) mediante equipos fáciles de utilizar en el campo. Las mediciones SPAD (Soil Plant Analysis Development) han probado ser una técnica no destructiva eficaz para determinar indirectamente la concentración de clorofilas (Jifon *et al.*, 2005, Monje y Bugbee 1992; Yadava, 1986; Wood *et al.*, 1992). Estas medidas requieren del ajuste para cada situación de cultivo (condiciones de crecimiento y anatomía de la hoja).

Por otra parte, se ha señalado en diversas especies que algunos parámetros, directos e indirectos, usados para determinar los niveles de clorofila están significativamente correlacionados con los niveles de nitrógeno foliar (Duce *et al.*, 1997; Calabretta *et al.*, 2004; Jifon y Syvertsen, 2002; Neilsen *et al.*, 1995; Peterson *et al.*, 1993; Porro *et al.*, 2001; Roccuzzo *et al.*, 2000; Wood *et al.*, 1992). Monje y Bugbee (1992) y Wood *et al.* (1992), sin embargo, señalan que los valores de correlación SPAD-N deben ser ajustados para cada especie. Nuestro estudio demuestra que las unidades SPAD presentan una buena correlación con los contenidos foliares de P y N, lo cual pone a disposición de este cultivo una nueva herramienta para el diagnóstico nutricional de elementos de gran importancia en sus requerimientos nutricionales, como lo es el nitrógeno. Correlaciones significativas entre valores SPAD, niveles de N y otros nutrientes se han observado en el manzano, la vid (Campbell *et al.*, 1990; Porro *et al.*, 2001; Singha y Townsend 1989) y en los cítricos (Calabretta *et al.*, 2004).

Dentro de algunas técnicas agronómicas que logran influir en la respuesta reproductiva del aguacate se encuentran el rayado de ramas.

En el aguacate se han realizado numerosos estudios para evaluar la acción del rayado de ramas. Por un lado, el anillado en prefloración aumenta el cuajado y previene

su caída, llegando a aumentar la producción notablemente en árboles juveniles del cv. 'Hass' (Köhne, 1992). Acevedo (1994) realiza anillado y doble incisión anular en marzo (HS), en aguacates rebajados del cv. 'Hass', y observa un claro efecto de ambos tratamientos sobre la inducción o diferenciación de yemas, aumentando el grado e intensidad de la floración, como también el número de frutos. Wilhelmy (1995) ensaya distintas épocas de anillado y doble incisión, sobre brotes vigorosos de aguacates 'Hass' rebajados, concluyendo que cuando se realiza en el mes de marzo (HS) aumenta el porcentaje de diferenciación de yemas apicales y, con ello, la intensidad de floración. Todos los tratamientos realizados en enero, febrero y marzo, adelantaron el inicio de floración, y lograron un aumento considerable del número de flores hacia el final de la floración.

Aún cuando se tienen estas evidencias, de un efecto promotor de la floración inducida por el rayado de ramas, sólo se ha estudiado su efecto directo sobre la acumulación de carbohidratos. Nuestro estudio evidenció cambios significativos en los contenidos de clorofila que relaciona una disminución de ellas hacia el período invernal con una mayor respuesta en la floración de la temporada siguiente. De hecho, en nuestros ensayos, los árboles de intensidad de floración alta (AF) manifestaron una significativa clorosis en el momento de la floración, con caída de hojas, quedando los árboles evidentemente afectados.

Sin embargo, se deben considerar otros factores. El aguacate es una especie cuyo origen está en zonas de bosques subtropicales, y es una especie, por tanto, no adaptada a fuertes radiaciones, ya que usualmente crece en ambientes más sombríos. Especies como esta, cuando se ven sometidas a radiaciones supraóptimas, experimentan fotoinhibición, o un descenso en su eficiencia fotosintética máxima del PSII (Kitao *et al.*, 2000). Por otra parte, la fotoinhibición ha sido asociada a la degradación de la clorofila y a una reducción de la  $A_{max}$  (Critchley, 1998; Demming-Adams *et al.*, 1996). Por ello, un exceso de energía absorbida puede resultar en la destrucción de clorofila, causando un amarillamiento global en el follaje. A ello debe añadirse que los árboles que presentan frutos, la fuerte acción sumidero de éstos estaría ejerciendo un efecto de feedforward sobre la fotosíntesis.

Este efecto, llamado de feedforward, puede ser explicado por una 'comunicación' entre frutos y hojas (en especial las nuevas) basada, probablemente, en señales de tipo

hormonal. Así, cuantos más frutitos crecen, las señales se amplifican y la actividad de las hojas próximas al fruto se ve incrementada en respuesta a la demanda. El resultado es que los frutos continúan creciendo y reclaman más fotoasimilados, lo que hace que se siga estimulando la producción de fotoasimilados y con ello el crecimiento de los frutos. Es decir, a mayor fuerza sumidero de los frutos, mayor actividad fotosintética, y con ello mayor conversión en ATP de la energía que llega a las hojas, disminuyendo con ello el exceso de energía que puede producir los efectos dañinos de la fotoinhibición. Así se explica que los árboles de AF, que florecen menos en la siguiente floración, no presentan clorosis como los BF que florecerán más intensamente.

Estudios recientes han relacionado a la manoheptulosa y a su azúcar alcohol, el perseitol, con la protección de daños oxidativos, en particular de protección de enzimas claves, tales como la HMGR requerida para el crecimiento y desarrollo de los frutos (Cowan, 2004). Este hecho podría explicar, en parte, las elevadas concentraciones de estos dos azúcares en los tejidos del aguacate, ya que es una especie, que por su naturaleza de crecimiento en ambientes sombríos, estaría bajo fuertes presiones de fotoinhibición en los ambientes bajo los cuales se cultiva agrónicamente. Una vez más, resalta la importancia de la manoheptulosa como azúcar modulador en la fisiología de esta especie.

Resulta interesante los resultados presentados por Griffin *et al.* (2004) donde relaciona la presencia de manoheptulosa con la adaptación a elevados niveles de radiación en el taxa *Illium* L. Los autores plantean la hipótesis de que la manoheptulosa, al provenir por isomerización de la sedoheptulosa 1,7 bifosfato, y ésta a su vez de los intermediarios del ciclo de reducción del carbono (Ciclo de Calvin), sería un competidor que actuaría como sumidero interfiriendo con el adecuado reciclaje de la ribulosa 1,5 bifosfato. Este tema en aguacate es un campo que debiera ser estudiado con mayor profundidad en el futuro.

La síntesis de Prolina (Pro) ha sido propuesta como un mecanismo no enzimático para eliminar radicales OH· y servir como sumidero de energía para regular el potencial redox (Hare y Cress, 1997). En nuestro estudio, las mayores concentraciones de prolina en brotes se observaron en la época de floración y durante el primer crecimiento vegetativo, que coincide con la primera caída fisiológica de frutitos, y en la pulpa, en el período justo antes de alcanzar la madurez el fruto. Considerando que durante la

floración existe un elevado metabolismo y consumo de carbohidratos, para producir la gran cantidad de tejido floral que se expresa en ese período, y que, además, este tejido es una fuente inmensa de pérdida de agua, es posible que se produzcan situaciones de estrés para la planta que deriven en un aumento en los niveles de prolina. Por otra parte, el hecho de que el comienzo de la primera brotación vegetativa, que es altamente demandante no sólo de reservas, sino también de agua y minerales, coincida con otros dos eventos que son fuertes sumideros de estos recursos, como lo son la floración (que al ser prolongada, continúa cuando los brotes comienzan a crecer en cada panícula) y con el crecimiento lineal de los frutos que ya han cuajado, indica que éste debe ser un momento crítico que puede desencadenar un proceso de estrés hídrico, ya que existen muchas estructuras altamente demandantes de agua. El incremento de prolina observado justo antes de la madurez del fruto, podría estar relacionada, también, con un papel promotor de la síntesis de ABA y, a través de éste, con la ruta biosintética del etileno, hormona que controla los procesos de maduración y senescencia del fruto.

Los brotes de los tratamientos en los que se eliminó el fruto presentaron los mayores contenidos de prolina en invierno. Esto sugiere que la eliminación del fruto, durante estas fechas, entre la floración y el final de la segunda caída filológica de frutos, en las que existen temperaturas suficientemente altas y significativos puntos de crecimiento y desarrollo como para inducir un elevado requerimiento hídrico, pudo producir el cierre estomático, causando de esta forma un estrés hídrico, y con ello, la acumulación de prolina. Las intensidades de floración más altas se observaron en los tratamientos con los menores contenidos de prolina en las hojas y los mayores contenidos de prolina en los brotes. Es más, la concentración de prolina el segundo año fue significativamente más baja en los brotes (Figura 5.4), lo que se corresponde con la menor floración en la primavera siguiente, típica de una especie alternante como lo es el aguacate. Además, se encontró una correlación significativa entre la concentración de prolina en los brotes en la fecha T3 y la intensidad de floración, lo que abre una puerta para el estudio de la floración como respuesta a los estreses.

Aun cuando la floración sí coincidió con un aumento en los niveles de ABA, al igual que se observó con los de prolina, su acción debe relacionarse con la abscisión de estructuras florales que ocurre en dicho período. Los aguacateros producen muchísimas más flores de las que pueden cuajar, por lo que la planta ajusta el número de frutos en

desarrollo a los que puede nutrir, produciéndose una abscisión temprana de flores y frutitos recién cuajados. Más tarde, la concentración de ABA se incrementa notoriamente durante el período del segundo crecimiento vegetativo y durante el período denominado T3 en esta Tesis. Este momento coincide con el final de la segunda caída fisiológica de frutos, por lo que el incremento de ABA antecede, de nuevo, al proceso de abscisión de frutos. Posteriormente, el siguiente incremento de las concentraciones de ABA es coincidente con el proceso de maduración del fruto, lo que resulta lógico dado que el ABA y el etileno comparten la misma ruta de biosíntesis. Además, los resultados obtenidos (véase Figura 5.12) muestran como el tratamiento con mayor cantidad de frutos (AF) presentó la mayor concentración de ABA en las hojas y los brotes en el período de la primera caída fisiológica de frutos, lo que pone de manifiesto el efecto que tiene el número de frutos sobre su propia abscisión, es decir, sobre el ajuste de carga frutal antes mencionada.

En los casos en los que existe disfunción del aparato fotosintético, y nuestro estudio detecta indicios de fotoinhibición del aguacate, el incremento en la concentración de Pro puede jugar un papel importante previniendo a las membranas de un mayor daño oxidativo y preservando su integridad (Van Rensburg *et al.*, 1993), así como reduciendo el desbalance entre la luz absorbida por los fotosistemas y la utilizada en el transporte electrónico entre fotosistemas (Hare y Cress, 1997). La participación, por tanto, de la Pro en los mecanismos de fotoprotección de esta especie no puede descartarse.

Al ABA también se le ha concedido un papel inductor de la fotoprotección. Niveles elevados de esta hormona inducen un incremento del contenido de Car, de la actividad del ciclo de las Xantofilas (Ivanov *et al.*, 1995; Herde *et al.*, 1999) y de la actividad de las enzimas responsables de eliminar las ROS (Hung y Kao, 2003). El efecto que los niveles de radiación tuvieron sobre los contenidos de ABA sostienen el papel de fotoprotección señalado para éste, en vista de que los brotes iluminados mostraron prácticamente en todo el período de evaluación una concentración significativamente superior a la de los sombreados (Figura 5.14). Más aún, en los brotes iluminados con presencia de flores, esta concentración fue notablemente superior a la de los mismos iluminados pero sin flores, lo que podría indicar, además, un efecto, en conjunto, de estrés (ya descrito para el período de floración) y de fotoprotección contra el exceso de

luminosidad en los brotes iluminados, comparado con los brotes sombreados, con y sin flores.

La eficiencia fotosintética durante el desarrollo del fruto ha sido estudiada a través del análisis de fluorescencia clorofílica del fotosistema II (PSII). Esta técnica puede ser utilizada para la estimación rápida y no destructiva de la eficiencia cuántica del PSII en las hojas (Genty *et al.*, 1989), la cual se ha relacionado con la asimilación de CO<sub>2</sub> (Genty *et al.*, 1989; 1990; Cornic y Ghashghaie, 1991; Siebke *et al.*, 1997). Además, la disminución de la Fv/Fm permite identificar la existencia de fotoinhibición.

Los brotes iluminados presentaron, en ambas mediciones realizadas en invierno, valores de Fv/Fm disminuidos significativamente, y esta disminución fue mayor entre una medición y la otra, lo que indica un efecto de la radiación y posiblemente del frío sobre la integridad del PSII en aguacate. Se han demostrado daños por fotooxidación en aguacates sometidos a temperaturas bajas pero no congelantes y elevadas radiaciones (Taylor y Rowley, 1971; Powles, 1984; Robinson, 1993). Por otra parte, la presencia del fruto también demostró tener un efecto significativo sobre la eficiencia fotosintética de la planta. Así, los brotes con fruto presentaron siempre una mayor eficiencia cuántica máxima (Fv/Fm) y una mayor eficiencia cuántica del PSII ( $\Phi$ PSII) que los sin fruto, lo que sugiere que en las hojas se ejercen mecanismos de retroalimentación positiva (feedforward) de la fotosíntesis que se presentan cuando la demanda por fotoasimilados se incrementa, por ejemplo por la presencia del fruto, tal como se ha demostrado (Lenz y Kuntzel, 1974; Monselise y Lenz, 1980; Layne y Flore, 1995; Quereix *et al.*, 2001; Tartachnyk y Blanke, 2004). También, la presencia del fruto estaría actuando como fotoprotección al aumentar el consumo de energía producida por el PSII y, por ello, disminuyendo el exceso de energía que puede estar siendo absorbida por los complejos antena, que de otra forma derivarían en daños fotooxidativos y de fotoinhibición. El mecanismo de feedforward puede ser inducido por un incremento de la tasa de consumo de azúcares por parte de sumideros activos, liberando el Pi al citosol de las células de las hojas, promoviendo la fotofosforilación e incrementando la fijación de CO<sub>2</sub> a triosa-P por la Rubisco (Leegood, 1996; Paul y Pellny, 2003). Se ha sugerido que no se puede mantener una tasa fotosintética máxima solamente vía síntesis estromática de almidón, y por tanto, el aporte de Pi al cloroplasto es dependiente de la liberación de Pi a partir de la síntesis de otros compuestos como por ejemplo la sacarosa (Foyer y Galtier, 1996).

Como consecuencia, el grado de modulación de la fotosíntesis es dependiente de la naturaleza del carbohidrato finalmente sintetizado. Así, en las especies en las que la sacarosa es el principal azúcar de reserva, las hojas muestran menores niveles de inhibición de la fijación de CO<sub>2</sub> que en aquellas en las que se acumula almidón (Goldschmidt y Huber, 1992). En el aguacate, el metabolismo de los carbohidratos es totalmente diferente al del común de las especies frutales, en las que la sacarosa y el almidón son las principales fuentes de transporte y almacenamiento, respectivamente, de los carbohidratos. En el aguacate, los azúcares de mayor relevancia, como se ha visto ya en los resultados, fueron la gluc-6-P, la manoheptulosa y el perseitól. Como la glicólisis se ve fuertemente inhibida por la presencia de manoheptulosa, es probable que la vía de entrada de las hexosas-P a la glicólisis sea a través de la gluc-6-P, pero no directamente sino a través de los intermediarios que genera en la vía de las pentosas fosfato, la fruc-6-P y el gliceraldehído-3-P. La dinámica de la liberación de Pi en este tipo de metabolismo, es un aspecto aun no claro y que debiera estudiarse con más detalle.

El rayado, no modificó la  $\Phi$ PSII pero si la Fv/Fm, lo que sugiere que esta técnica indujo un daño de fotoinhibición, que suele relacionarse con una disminución en la Fv/Fm (Maxwell y Johnson, 2000; Griffin *et al.*, 2004; Kitao *et al.*, 2000; Rivas, 2007). Además, en el aguacate la fotoinhibición suele estar asociada a bajas temperaturas invernales (Taylor y Rowley, 1971; Powles, 1984; Robinson, 1993; Whiley, 1994), por lo que no resulta extraño que el rayado realizado en noviembre, y que cicatrizó en pleno período invernal, pueda haber favorecido un malfuncionamiento del PSII y, con ello, producido daños por fotoinhibición.

Por otra parte, al comparar dos técnicas como el rayado y el anillado, pero realizadas en primavera, se vio como en una primera etapa, los valores de Fv/Fm disminuyeron notablemente después de realizado el tratamiento, en prefloración. Sin embargo, un mes después de los tratamientos, los tratamientos que presentaron una mayor Fv/Fm fueron el rayado y luego el control.

El efecto del rayado aumentando el cuajado de frutos en el aguacate (Rowlands, 1994), puede estar relacionado con la acumulación de carbohidratos que se produce por efecto del mimo. Si se considera que en este período se está produciendo la primera caída fisiológica de frutitos, que se corresponde a un período de fuerte demanda y



competencia por fotoasimilados, este aumento en fotoasimilados resulta de gran importancia para la sobrevivencia de un mayor número de frutitos (Wallerstein *et al.*, 1974; Mataa *et al.*, 1998; Rivas *et al.*, 2006). Esta interpretación, además, es coherente con la autorregulación del árbol ajustando el número de frutos a los que puede nutrir, como se ha dicho más arriba, ya que ésta solo puede tener una razón nutricional. Sin embargo, no parece existir un mecanismo de feedforward o retroalimentación positiva de la fotosíntesis que se presentan cuando la demanda por fotoasimilados se incrementa, tal como se ha demostrado en otros casos (Lenz y Kuntzel, 1974; Monselise y Lenz, 1980; Layne y Flore, 1995; Quereix *et al.*, 2001; Tartachnyk y Blanke, 2004).

Pero el efecto del rayado también se ha relacionado con cambios en el contenido hormonal en la planta (Goren *et al.*, 1971; Wallerstein *et al.*, 1973; Dann *et al.*, 1985; Cutting y Lyne, 1993; Talón *et al.*, 2000). Éste se explica a través de un control hormonal de la fotosíntesis ejercida por los frutitos en desarrollo, ya que las aplicaciones de giberelinas (GAs) se han señalado como promotores de la actividad fotosintética a través del estímulo de la fijación de CO<sub>2</sub> por la Rubisco (Yuan y Xu, 2001). Además, en árboles rayados, se ha observado un incremento en los niveles de GAs (Mehouachi *et al.*, 2000), lo que refuerza la idea del control positivo de la fotosíntesis mediado por dichas sustancias. Además, el papel de las GAs en el proceso se ha relacionado con la capacidad sumidero que confieren al ovario para que éste reclame metabolitos, y sobre todo carbohidratos.

Sin embargo, una mayor demanda de fotoasimilados de los frutitos favorecida por un tratamiento de rayado puede implicar una menor disponibilidad para el crecimiento de los brotes. Nuestros resultados demuestran un efecto negativo del rayado sobre el desarrollo de los brotes en longitud, así como en el número de yemas. La disponibilidad de reservas para su desarrollo, cuando aún no había finalizado, puede haber disminuido, por un efecto de competencia con los frutos que aumentan su capacidad sumidero por efecto del rayado. El rayado en la primera fecha (noviembre) resultó en un incremento del diámetro polar del fruto, sin embargo, en la segunda fecha dio lugar a una disminución del diámetro, lo que puede deberse a un tardío y más prolongado proceso de cicatrización, y con ello, de debilitamiento para la planta (Figura 5.22).

En primavera, el anillado de ramas es una herramienta demasiado severa para el aguacate. En efecto, en esta época disminuye progresivamente la Fv/Fm, evidenciando

un daño en la integridad del aparato fotosintético. Los valores de  $\Phi_{PSII}$  no se vieron modificados por ninguno de los tratamientos, coincidiendo con lo ya visto para el rayado en otoño. Aún cuando este tratamiento de anillado produjo un incremento del diámetro ecuatorial del fruto maduro, 6 meses después del tratamiento, con el transcurso del tiempo esta diferencia se perdió, debido probablemente al hecho de que el fruto del aguacate presenta un comportamiento algo inusual, ya que el crecimiento del mesocarpo por división y expansión celular continúa hasta llegada la madurez del fruto (Cowan *et al.*, 1997), existiendo un crecimiento compensatorio que logra minimizar el efecto inicial sobre el crecimiento de los frutos.

Por otra parte, los tratamientos de eliminación del fruto provocaron, como respuesta a corto plazo, una disminución de ambos parámetros,  $F_v/F_m$  y  $\Phi_{PSII}$ , respecto de los árboles con fruto y el control. Ello pone de manifiesto un efecto directo de estrés hídrico inducido por la realización del desfrute, como ya se vio al estudiar la prolina.



## **V. Conclusiones Generales**

## V. Conclusiones Generales

---

- El período durante el cual el fruto de aguacate ejerce su influencia inhibidora de la siguiente floración corresponde desde la floración hasta finalizada la segunda caída fisiológica de frutos (T3), que es coincidente con el período de la segunda brotación vegetativa y donde ha comenzado a cesar el crecimiento lineal del fruto.
- Los carbohidratos que presentaron mayor relevancia en las épocas y eventos fenológicos analizados fueron la gluc-6-P, la manoheptulosa y el perseitol. La gluc-6-P estuvo relacionada con el abastecimiento de energía en los períodos de fuerte demanda. La manoheptulosa fue un azúcar clave en relación con la disponibilidad y transporte de reservas para los eventos fenológicos de mayor relevancia en el aguacate.
- El comportamiento de los azúcares resultó modificado, tanto por los niveles de radiación, como por las intensidades de floración. En general, la luminosidad y la ausencia de frutos favoreció la acumulación de azúcares solubles y de almidón.
- La semilla fue un fuerte sumidero durante el período entre la primera y la segunda brotación vegetativa, acumulando la mayor parte de su almidón en este período. En el período posterior a la segunda brotación, los tejidos del fruto, en general, ejercen una significativa fuerza sumidero produciéndose una fuerte acumulación de carbohidratos solubles.
- El período de floración y primer crecimiento vegetativo se mostró dependiente de los azúcares solubles y almidón acumulados durante el período a partir de la segunda brotación de la temporada anterior. La segunda brotación vegetativa, que coincide con la fecha de desfrute T3, mostró ser dependiente de los fotoasimilados generados y disponibles durante el crecimiento lineal del fruto.
- La Floración fue un fuerte sumidero de compuestos nitrogenados, en particular de amonio, y la intensidad de floración se vio significativamente correlacionada con los contenidos de clorofilas, desarrollándose clorosis en los tratamientos con mayor floración. Las diferentes intensidades de floración influyeron significativamente en la brotación y renovación de brotes para la siguiente floración. La ausencia de fruto permitió una mejor brotación y acumulación de reservas para sostener la siguiente floración.

- La madurez del fruto se relacionó con disminuciones en los niveles de varios azúcares en sus tejidos, en particular de manoheptulosa y perseitol. Estos dos azúcares mostraron tener libre movilidad en los tejidos del aguacate.
- Los factores ecofisiológicos de estrés analizados evidenciaron tener un efecto significativo sobre la floración y la presencia del fruto. La fluorescencia clorofílica, concentración de prolina y de ácido abscísico (ABA) se relacionaron con la presencia o ausencia de floración y con la presencia o ausencia de frutos.
- El rayado de ramas, por otra parte, modificó la productividad fotosintética máxima del PSII (Fv/Fm), induciendo fotoinhibición. La luminosidad también produjo un efecto significativo en los parámetros de fluorescencia clorofílica, evidenciando la ocurrencia de fotoinhibición en esta especie.



## **VI. Bibliografía**

## Bibliografía

- Acevedo, G. J.** 1994. Efecto del Anillado, Doble incisión anular e Inyección de Cultar en ramas de paltos cv, Hass. Tesis Ing. Agrónomo. Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 124 p.
- Adato, I.**, 1990. Effects of paclobutrazol on avocado (*Persea americana* Mill.) cv. 'Fuerte'. *Scientia Horticulturae*, 45 105-115.
- Alvarez de la Peña, F.** 1975. El Aguacate. Madrid, Publicaciones de Extensión. 169 p
- Amthor, J.S.** 1984. The role of maintenance respiration in plant growth. *Plant, Cell Environ.* 7:561-569.
- Asada, K.** 1999. The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50, 601-639.
- Aubert, B. and Lossois, S.** 1972. Considérations sur la phénologie des espèces arbustives. *Fruits* 27(4): 269-286.
- Bean, R.C., Barr, B.K., Welch, H.V. and Porter, G.G.** 1962. Carbohydrate metabolism of avocado. I. Relations between sugars in leaves during photosynthesis and subsequent dark periods. *Archives of Biochemistry and Biophysics* Vol. 96, Issue 3, pp. 524-529
- Biran, D.** 1979. Fruitlet abscisión and spring growth retardation – their influence on avocado productivity. MSc. Thesis, The Hebrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel. (In Hebrew, English abstract).
- Björkman O.** 1987. Low temperature chlorophyll fluorescence in leaves and its relationship to photon yield of photosynthesis photoinhibition. In: Kyle D.J., Osmond C.B., Arntzen C.J. (eds.). *Topics in Photoinhibition* Vol. 9. Elsevier Press, Amsterdam. pp. 123-144.
- Blanke, M.** 1991. Photosynthesis of avocado fruit. In: Lovatt, C.J., Holthe, P.A. and Arpaia, M.L. (eds.) *Proceedings of the Second World Avocado Congress*, Vol. 1. University of California, Riverside, California, 1, pp. 179-190.
- Blanke, M.M. y Bower, J.P.** 1990. Surface features of the avocado fruit. *Trop. Agric.* 67:379-38 I.
- Blanke, M.M. y Lenz, F.** 1989. Fruit photosynthesis. *Plant, Cell Environ.* 12:31-46.
- Blanke, M.M. y Notton, B.A.** 1991. Kinetics and physiological significance of photosynthetic phosphoenolpyruvate carboxylase in avocado fruit. *J. Plant Physiol.* 137:553-558.
- Blanke, M. and Whiley, A.** 1995. Bioenergetics, respiration cost and water relations of developing avocado fruit. *Journal of Plant Physiology* 145, 87-92.
- Blumenfeld, A., Gazit, S. y Argaman, E..** 1983. Factors involved in avocado productivity. Dept. Subtropical Horticulture, Volcani Centre, Bet-Dagan, Israel, Special Publ. No. 222, pp 84-85.
- Board, M., Colquhoun, A. and Newsholme, E.A.** 1995. High  $K_m$  glucose-phosphorylating (glucokinase) activities in a range of tumor cell lines and inhibition rates of tumor growth by the specific enzyme inhibitor mannoheptulose. *Cancer Res.* 55:3278-3285.
- Bolhar-Nordenkamf, H.R.** 1985. Shoot morphology and leaf anatomy in relation to photosynthesis. In: Coombs, J., Hall, D.O., Long, S.P. and Scurlock, J.M.O. (eds) *Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis*. Pergamon Press, Oxford, pp. 107-117.
- Bondada, B.R. and Syvertsen, J.P.** 2005. Current changes in net CO<sub>2</sub> assimilation and chloroplast ultrastructure in nitrogen deficient citrus leaves. *Environmental and Experimental Botany* 54, 41-48.
- Bower, J.P., Wolstenholme, B.N. and de Jager, J.M.** 1978. Incoming solar radiation and internal water status as stress factor in avocado, *Persea americana* Mill. Cv. Edranol. *Crop Production* 7, 129-133.
- Bower, J.P. and Cutting, J.G.** 1988. Avocado fruit development and ripening physiology. *Horticultural Reviews*, 113: 229-71.

- Bradford, M.M.** 1976. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Buchholz, A.** 1986. Young vegetative growth as a possible factor involved with fruitlet abscisión in avocado. MSc. Thesis, Hebrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel. (In Hebrew with English summary.)
- Buttrose, M. and Alexander, D.** 1978. Promotion of floral initiation in 'Fuerte' avocado by low temperature and short daylength. *Scientia Horticulturae* 8,213-219.
- Calabrese, F.** 1992. El aguacate. Madrid. Ediciones Mundi-Prensa. 249 p.
- Calabretta M. L., Tittarelli F., Trinchera A., Di Bartolomeo E., Giuffrida A., De Simone C., Pierandrei F., Salerno A., Rea E., Intrigliolo F.** 2004. X International Citrus Congress, Agadir, Morocco. In press
- Campbell, R.J., Mobley, K.N., Marini, R.P. and Pfeiffer, D.G.** 1990. Growing conditions alter the relationship between SPAD-501 values and apple leaf chlorophyll. *HortScience* 25(3):330-331.
- Cannell, M.R.G.** 1985. Dry matter partitioning in tree crops. In Attributes of Trees as Crop Plants. Eds. M.R.G. Cannell and J.E. Jackson. Inst. Ten: *Ecol.*, pp 160-193.
- Chaikiattiyos, S., Menzel, C. and Rasmussen, T.** 1994. Floral induction in tropical fruit trees: Effects of temperature and water supply. *Journal of Horticultural Science* 69(3): 397-415.
- Claussen, W. and Lenz, F.** 1983. Investigations on the relationship between sucrose phosphate synthetase activity and net photosynthetic rates, and sucrose and starch content of leaves of *Solanum melongena* L. *Z Pflanzenphysiol.* 109, 459-468.
- Cornic, G. and Ghashghaie, J.** 1991. Effect of temperature on net CO<sub>2</sub> assimilation and photosystem II quantum yield on electron transfer on French bean leaves (*Phaseolus vulgaris* L.) during drought stress. *Planta* 183, 178-184.
- Couranjou, J.** 1970. Investigations on Genetical Causes and Mechanisms of Biennial Bearing in Domestic Pomes .1. Evidence on 2 Character of Productivity As Factors of Biennial Bearing Habit - Incidence of An Environmental Factor on Expression and Modification of Biennial Bearing Habit. *Annales de l'Amelioration des Plantes* 20 (3), 297.
- Coutanceau, M.** 1964. Fruticultura. España, Ediciones de Occidente. 108p.
- Cowan, k., Moore-Gordon, C., Bertling, L. and Wolstenholme, N.** 1997. Metabolic control of avocado fruit growth: Isoprenoid growth regulators and reaction catalyzed by 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme a Reductase. *Plant Physiology* 114: 511-518.
- Cowan, A.K.** 2004. Metabolic control of avocado fruit growth: 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase, active oxygen species and the role of C7 sugars. *South African Journal of Botany*, Volume 70, Number 1, 1 March 2004 , pp. 75-82 (8).
- Cran, D.G. and Possingham, J.V.** 1973. The fine structure of avocado plastids. *Ann. Bot.* 37:993-997.
- Critchley, C.** 1998. Photoinhibition. In Photosynthesis, a comprehensive treatise (A.S. Raghavendra, ed.). Cambridge University Press, Cambridge, p.264-272.
- Cutting, J.G. and Bower, J.P.** 1990. Spring vegetative flush removal: the effect on yield size, fruit mineral composition and quality. *South African Avocado Growers' Association Yearbook* 13, 33-34.
- Cutting, J.G.M. and Lyne, M.C.** 1993. Girdling and the reduction in shoot xylem sap concentration of cytokinin and gibberellins in peach. *Journal of Horticultural Science* 68, 619-626.
- Dann, I.R., Jerie, P.H. and Chalmers, D.J.** 1985. Short term changes in cambial growth and endogenous IAA concentrations in relation to phloem girdling of peach, *Prunus persica* (L.) Batsch. *Australian Journal of Plant Physiology* 12, 395-402.
- Datta A.G. and Racker E.** 1961. Mechanism of action of transketolase. I. Properties of the crystalline yeast enzyme. *J Biol Chem.* 1961 Mar;236:617-623.
- Davenport T.L.** 1982. Avocado growth and development. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 95: 92-96
- Davenport, T.L.** 1986. Avocado flowering. *Horticultural Reviews* 8, 257-289.



- Davison, P.A., Hunter, C.N. and Horton, P.** 2002. Overexpression of  $\beta$ -carotene hydroxylase enhances stress tolerance in Arabidopsis. *Nature* 418, 203-206.
- Demmig-Adams, B.** 1990. Carotenoids and photoprotection in plants: a role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochimica et Biophysica Acta* 102, 1-24.
- Demmig-Adams, B., Gilmore, A.M. and Adams, W.W III.** 1996. Carotenoids 3: in vivo function of carotenoids in higher plants. *FASEB Journal* 10, 403-412.
- Dey, P.M. and Dixon, R.A.** 1985. Biochemistry of Storage Carbohydrates in Green Plants, 1-51. Dey, P.M. and Dixon, R.A. (Eds.). Academic Press, London.
- Di Vaio, C., Petito, A. and Bucheri, M.** 2001. Effect of girdling on gas exchanges and leaf mineral content in the "independence" nectarine. *Journal of Plant Nutrition* 24, 1047-1060.
- Drake, B.G., González-Meler, M.A. and Long, S.P.** 1997. More efficient plants: a consequence of rising atmospheric CO<sub>2</sub>. *Annual Review of Plant Physiology and Molecular Biology* 48, 609-639.
- Duce, P., B. Arca, D. Spano, A. Ventura e I. Usai.** 1997. Uno strumento per la misura non distruttiva del contenuto in clorofilla: applicabilità dello strumento agli agrumi. *Italus Hortus*. 4(4):26-31.
- Eaks, I.** 1985. Effect of Calcium on Ripening, Respiratory Rate, Ethylene Production, and Quality of Avocado Fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110(2) 145-148.
- Eaks, I.** 1990. Change in the fatty acid composition of avocado fruit during ontogeny, cold storage and ripening. *Tropical Fruit in International Trade. Acta Horticulturae* 269: 141-151.
- Ebert, A. and F. Bangerth.** 1981. Relations between the concentration of diffusible and extractable gibberellic-like substances and the bearing behaviour in apples as affected by chemical fruit thinning. *Scientia Hort.* 15:45-52.
- Ehleringer, J. and Björkman, O.** 1977. Quantum yields for CO<sub>2</sub> uptake in C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants. *Plant Physiology* 59, 86-90.
- Foyer, C.H. and Galtier, N.** 1996. Source-sink interaction and communication in leaves. En: Photoassimilate Distribution in Plants and Crops: Source-Sink Relations. Zaminski, E. y Schaffer, A.A., (eds.). Marcel Dekker, New York, pp. 311-340.
- Galán-Sauco, V.** 1990. Los frutales tropicales en los subtrópicos (Aguacate-mango-Litchi-Logan). España. Ediciones Mundi-Prensa. 133p.
- García-Luis, A., Fornes, F., Sanz, A. and Guardiola, J.L.** 1988. The regulation of flowering and fruit set in citrus. Relationship with carbohydrate levels. *Israel Journal of Botany* 37, 189-201.
- Gazit, S. and Degani, C.** 2002. Reproductive biology. In: A.W. Whiley, B. Schaffer and B.N. Woiwodenholme, Editors, *The Avocado*, CABI Publishing, Oxon (2002), pp. 101-133.
- Genty, B., Briantais J-M. and Baker, N.R.** 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990, 87-92.
- Genty, B., Wonders, J. and Baker, N.R.** 1990. Non-photochemical quenching of F<sub>o</sub> in leaves is emission wavelength dependent: consequences for quenching analysis and its interpretation. *Photosynthesis Research* 26, 133-139.
- Gil-Albert, F.** 1992. La Ecología del Arbol Frutal. Vol. 2. 237 p. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Gillapsy, G., Ben-David, H. and Gruijssem, M.** 1993. Fruits: A developmental perspective. *Plant Cell* 5:1439-1451.
- Goldschmidt, E.E. and Huber, S.C.** 1992. Regulation of Photosynthesis by End-Product Accumulation in Leaves of Plants Storing Starch, Sucrose, and Hexose Sugars. *Plant Physiology* 99, 1443-1448.
- Goldschmidt, E.E. and Samach, A.** 2004. Aspects of flowering in fruit trees. Proc. 9th IS on *Plant Bioregulators. Acta Hort* 653: 23-27.
- Goren, R., Goldschmidt, E.E. and Monselise, S.P.** 1971. Hormonal balance in bark and leaves of 'Shamouti' orange trees (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) in relation to ringing. *Journal of Horticultural Science* 46, 443-451.

- Griffin, J.J., Ranney, T.G. and Pharr, D.M.** 2004. Photosynthesis, Chlorophyll Fluorescence, and Carbohydrate Content of Illicium Taxa Grown Under Varied Irradiance. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 129(1):46-53.
- Halliwell, B.** 1987. Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplast. *Chemistry and Physics of Lipids* 44, 327-340.
- Hare, P.D. and Cress, W.A.** 1997. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* 21, 79-102.
- Havaux, M. and Lannoye, R.** 1987. Reversible effects of moderately elevated temperature on the distribution of excitation energy between the two photosystems of photosynthesis in intact avocado leaves. *Photosynthetic Research* 14, 147-158.
- Havaux, M., Canaani, O. and Malkin, S.** 1987. Inhibition of photosynthetic activities under slow water stress measured in vivo by the photoacoustic method. *Physiologia Plantarum* 70, 503-510.
- Herde, O., Peña-Cortés, H., Fuss, H., Willmitzer, L. and Fisahn, J.** 1999. Effects of mechanical wounding, current application and heat treatment on chlorophyll fluorescence and pigment composition in tomato plants. *Physiologia Plantarum* 105, 179-184.
- Hernández, F.** 1991. Aproximación al ciclo fenológico del palto (*Persea americana* Mill.) cultivar Hass, para la zona de Quillota, V región. Taller de Licenciatura. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 99 p.
- Herold, A.** 1980. Regulation of Photosynthesis by Sink Activity-The Missing Link *New Phytologist*, Vol. 86, No. 2, pp. 131-144.
- Ho, L.C.** 1988. Metabolism and compartmentation of imported sugars in sink organs in relation to sink strength. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 39, pp. 355-378.
- Ho, L. C.** 1992. Fruit growth and sink strength. In: Fruit set production: Aspects of development, environmental physiology and ecology. Marshall, C., and Grace J. (Eds.). Cambridge Univ. Press. Great Britain. pp: 101-124.
- Hung, K.T. and Kao, C.H.** 2003. Nitric oxide counteracts the senescence of rice leaves induced by abscisic acid. *Journal of Plant Physiology* 160, 871-879.
- Iglesias, D.J., Lliso, I., Tadeo, F.R. and Talón, M.** 2002. Regulation of photosynthesis through source:sink imbalance in citrus is mediated by carbohydrate content in leaves. *Physiologia Plantarum* 116, 563-572.
- Inskeep, W.P. and Bloom, P.R.** 1985. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N,N-dimethylformamide and 80% acetone, *Plant Physiol.* 77 (1985), pp. 483-485.
- Intrigliolo, F., A. Giuffrida, M.L. Calabretta, P. Rapisarda and G. Rocuzzo.** 2000. The SPAD as an indicator of nitrogen nutritional status in Citrus. IXth International Citrus Congress. Orlando, Florida.
- Issarakraisila, M. and Considine, J.A.** 1994. Effects of temperature on pollen viability in mango cv. Kensington. *Annals of Botany*, 73 : 231-240.
- Ivanov, A.G., Krol, M., Maxwell, D. and Huner N.P.A.** 1995. Abscisic acid induced protection against photoinhibition of PSII correlates with enhanced activity of the xanthophyll cycle. *FEBS Letters* 371, 61-64.
- Jackson, D.I. and Sweet, G.B.** 1972. Flower initiation in temperate woody plants. *Hortic. Abstr.* 42:9-24.
- Jackson, J.E.** 1980. Light interception and utilization by orchard systems. *Horticultural Reviews*, 2, 208-267.
- Jifon JL, Syvertsen JP, Whaley E.** 2005. Growth environment and leaf anatomy affect nondestructive estimates of chlorophyll and nitrogen in Citrus sp. leaves. *J Am Soc Hortic Sci* 130:152-158.
- Jifon, J.L. and Syvertsen, G.P.** 2002. Nondestructive estimation of leaf chlorophyll and nitrogen in citrus genotypes: a comparison of three types of meters. XXVIth International Horticultural Congress. Toronto, Canada. (abstract)
- Jonkers, H.** 1979. Biennial bearing in apple and pear: A literature survey. *Scientia Hort.* 11: 303-317.

- Kaiser, C. and Wolstenholme, B.N.** 1994. Aspects of delayed harvest of 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.) fruit in a cool subtropical climate. II. Fruit size, yield, phenology and whole-tree starch cycling. *Journal of Horticultural Science* 69: 447-457.
- Kimelmann, R.** 1979. The influence of different temperatures and light intensities on gas exchange of avocado leaves (*Persea americana* (Mill.)). M. Sc. Agri. Thesis. Hewbrew University of Jerusalem, Rehovot, Israel.
- Kitao, M., Lei, T.T., Koike, T., Tobita, H. and Maruyama, Y.** 2000. Susceptibility to photoinhibition of three deciduous broadleaf tree species with different successional traits raised under various Light regimenes. *Plant Cell Environm.* 23:81-89.
- Koch KE.** 1996. Carbohydrate modulated gene expression in plants. *Annu Rev Plant Mol Biol* 47: 509-540.
- Köhne, J.S.** 1992. Increased yield through girdling of young Hass trees prior to thinning. *South Africa Avocado Growers Association Yearbook* 15:68.
- Köhne, J.S. and Kremer-Köhne, S.** 1987. Vegetativo growth and fruit retention in avocado as affected by a new plant growth regulator (paclobutrazol). *South African Avocado Growers I Assn. Yrbk.* 10, 64-66.
- Köhne J. S and Kremer – Köhne S.** 1995. Possible means to increase Hass avocado fruit size. Proceedings of The World Avocvado Congress III, 1995. pp. 143-159
- Kramer, P. and Kozłowski, T.** 1979. Physiology of woody plants. Academic Press, New York. 794p.
- Krause G.H.** 1988. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. *Physiologia Plantarum* 74, 566–574.
- Krause, G.H. and Weis, E.** 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42, 313-349.
- Layne, D.R. and Flore, J.A.** 1995. End-product Inhibition of Photosynthesis in *Prunus cerasus* L. in Response to Whole-plant Source-Sink Manipulation. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 120, 583-599.
- Leegood, R.C.** 1996. Primary Photosynthate Production: Physiology and Metabolism. En: Photoassimilate Distribution in Plants and Crops: Source-Sink Relations. Zaminski, E. y Schaffer, A.A., (eds.). Marcel Dekker, New York, pp. 21-41.
- Lenz, F. and Kuntzel, U.** 1974. Carbohydrate content of citrus leaves as affected by fruit load. *Gartenbauwissenschaft* 39, 99-101.
- Leon, P. and Sheen, J.** 2003. Sugar and hormone connections. *Trends Plant Sci* 8 (3):110-6.
- Lever, B.** 1986. Cultar- a technical overview. *Acta Horticulturae* 179: 459- 466.
- Liu, X., Sievert, J., Arpaia, M. and Madore, M.** 2002. Postulated physiological roles of the seven-carbon sugars, mannoheptulosa and perseitol in avocado. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 127: 108-114.
- Liu, X., Robinson, P., Madore, M., Witney, G. and Arpaia, M.** 1999a. Hass avocado carbohydrate fluctuations. I. Growth and phenology. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124: 671-675.
- \_\_\_\_\_ „\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ . and \_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_. 1999b. Hass avocado carbohydrate fluctuations. II. Fruit growth and ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124: 676-681.
- Long, S.P. and Hallgren, J.E.** 1985. Measurement of CO<sub>2</sub> fixation by plants in the field and in the laboratory. In: J.D. Coombs, D.O. Hall, S.P. Long and J.M.O. Scurlock, Editors, Techniques in bioproductivity and photosynthesis (2nd ed), Pergamon Press, UK (1985), pp. 62–94.
- Lovatt, C.** 1990. Factors affecting fruit set/early fruit drop in avocado. *California Avocado Society Yearbook* 71: 193-199.
- Lovatt, C.** 2004. Eliminating alternate bearing of “Hass” Avocado. Proceeding of the California Avocado Research Symposium, October 30, 2004. University of California, Riverside. California Avocado Commission. Pages 89-95.

- Luza, J.G.; Lizana, L.A. and Masson, L.,** 1990. Comparative lipids evolution during cold storage of three avocado cultivars. *Acta Horticulturae* 269, Tropical Fruit in International Trade.
- Magné, C. and Larher, F.** 1992. High sugar content of extract interferes with colorimetric determination of amino acids and free proline. *Analytical Biochemistry* 200, 115-118.
- Maldonado, J.M., Agüera, E. y Pérez Vicente, R.** 2000. Asimilación del nitrógeno y del azufre. En: Fundamentos de Fisiología Vegetal. Azcón-Bieto, J. y Talón, M. (eds.). McGraw-Hill Interamericana, Barcelona, pp. 235-246.
- Marquand, R.D. and Tipton, J.L.** 1987. Relation between extractable chlorophyll and an in situ method to estimate leaf greenness. *Hortscience*, 22:1327-1332.
- Martens, D.A., S. Luck, and W.T. Frankenberger, Jr.** 1994. Role of plant growth regulators in vegetative spring flush, flowering and fruit drop in avocado (*Persea americana* Mill.). Spec. Rpt. Calif. Avocado Dev.Org., Calif. Avocado Soc., Saticoy.
- Martínez, T.M. and Zacarías, L.** 1997. Abscisic acid in the response of 'Fortune' mandarins to chilling. Effect of maturity and high-temperature conditioning. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 73, 494-502.
- Martínez-Fuentes, A., Mesejo, C., Juan, M., Almela, M. and Agustí, M.** 2004. Restrictions on the exogenous control of flowering in citrus. *Acta Horticulturae*. 632. 91-98.
- Mataa, M., Tominaga, S. and Kozaki, I.** 1998. The effect of time of girdling on carbohydrate contents and fruiting in 'Ponkan' mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). *Scientia Horticulturae* 73, 203-211.
- Maxwell K, Johnson G.N.** 2000. Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51:659-668.
- Mehouachi, J., Iglesias, D.J., Tadeo, F.R., Agustí, M., Primo-Millo, E. and Talón, M.** 2000. The role of leaves in citrus fruitlet abscission: Effects on endogenous gibberellin levels and carbohydrate contents. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 75, 79-85.
- Meyer, B.** 1960. Introducción a la fisiología vegetal. Buenos Aires, Eudeba. 57Op.
- Miller, N.J., Sampson, J., Candeias, L.P., Bramley, P.M. and Rice-Evans, C.A.** 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters* 384, 240-242.
- Monje, O.A. and Bugbee, B.** 1992. Inherent limitations of non destructive Chlorophyll meters: a comparison of two types of meters. *Hort Science*. 27:69-71.
- Monselesse, S.P. and Goldschmidt, E.E.** 1982. Alternate bearing in fruit trees. *Horticultural Review*, 4:128-173.
- Monselesse, S.P. and Lenz, F.** 1980. Effect of fruit load on photosynthetic rates of budded apple trees. *Gartenbauwissenschaft* 45, 220-224.
- Mudd, J. B. and Stumpf, P. K.** 1961. Fat metabolism in higher plants. XIV. Factors affecting the synthesis of oleic acid by particulate preparations from avocado mesocarp. *J. Biol. Chem.* 236: 2602-09.
- Moran, R.** 1982. Formulae for Determination of Chlorophyllous Pigments Extracted with N,N-Dimethylformamide. *Plant Physiology* 69, 1376-1381.
- Moran, R. and Porta, D.** 1979. Chlorophyll determination in intact tissues using N,N-dimethylformamide. *Plant physiology*. 65:478-479.
- Moss, G.J.** 1971. Effect of fruit on flowering in relation to biennial bearing in sweet orange (*Citrus sinensis*). *Journal of Horticultural Science*, Ashford, v. 46, p. 177-184.
- Myers, S.C., Savelle A.T., Tustin D.S. and Byers R.E.** 2002. Partial flower thinning increases shoot growth, fruit size, and subsequent flower formation of peach. *HortScience* 37,647-650.
- Neilsen, D., Hogue, E.J., Neilsen, G.H., and Paromchuk, P.** 1995. Using SPAD 502 values to asses the nitrogen status of apple trees. *HortScience* 30: 508-512.
- Nevin, J.M. and Lovatt, C.J.** 1989. Changes in starch and ammonia metabolism during low temperature stress-induced flowering in Hass avocado-A preliminary report. *South African Avocado Growers' Assn. Yrbk.* 12:21-25.
- Noctor, G. and Foyer, C.H.** 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen and control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49, 249-279.

- Noel, A.R.A. 1970. The girdled tree. *Botanical Review* 36, 162-193.
- Nordal, A. and Benson, A. A. 1954. Isolation of mannoheptulose and identification of its phosphate in avocado leaves. *J. Am. Chem. Soc.* (1954) 76:5054-5055.
- Oliveira, C.M. and Priestley, C.A.. 1988. Carbohydrate reserves in deciduous fruit trees. *Hort. Rev.* 10:403-430.
- Paul, M.J. and Pellny, T.K. 2003. Carbon metabolite feedback regulation of leaf photosynthesis and development. *Journal of Experimental Botany* 54, 539-547.
- Paz-Vega, S. 1997. Alternate bearing in the avocado (*Persea americana* mill). *California Avocado Society Yearbook* 81: 117-148.
- Peterson, T.A., Blackmer, T.M, Francis, D.D. and Schepers, J.S. 1993. Using a chlorophyll meter to improve N management. Nebguide G93-117-A. 4 p. Cooperative Extension Service, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska, Lincoln, USA
- Porro, D., Dorigatti, C., Stefanini, M. and Ceschini, A. 2001. Use of SPAD meter in diagnosis of nutritional status in apple and grapevine. *Acta Hort.* 564:243-252.
- Ponles, S.B. 1984. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu Rev Plant Physiol.* 35:15-44.
- Quereix, A., Dewar, R. C., Gaudillere, J., Dayau, S. and Valancogne, C. 2001. Sink feedback regulation of photosynthesis in vines: measurements and model. *Journal of Experimental Botany* 52, 2313-2322.
- Razeto, B. 2000. El palto: Un árbol magnífico pero de discreta producción. *Revista Aconex* 68: 5-9.
- Razeto, B. y Longueira, J. 1986. Efectos del anillado de tronco y del paclobutrazol en paltos cv. Negra de La Cruz. *Inv. Agrícola* 2 (9):47-51.
- Ribas-Carbó, M. y González-Meler, M.A. 2000. Fisiología de la respiración de las plantas. En: Fundamentos de Fisiología Vegetal. Azcón-Bieto, J. y Talón, M. (eds.). McGraw-Hill Interamericana, Barcelona, pp. 217-233.
- 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 parthenocarpic ability. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 81, 289-295.
- Rivas, F.; Gravina, A. y Agustí, M. 2007. Girdling effects on fruit set and quantum yield efficiency of PSII in two *Citrus* cultivars. *Tree Physiology* 27, 527-535.
- Richings, E.W., Cripps, R.F., Cowan, A.K. 2000. Factors affecting 'Hass' avocado fruit size: carbohydrate, abscisic acid and isoprenoid metabolism in normal and phenotypically small fruit. *Physiologia Plantarum* 109, 81-89.
- Richtmyer, N.K. 1970. The isolation of volemitol and other polyhydric alcohols from avocado seeds. *Carbohydrate Research* 12: 135-138.
- Robinson, J.C. 1993. Climate-induced problems of growing bananas in the subtropics. In: Robinson, J.C. (ed.) Handbook of Banana Growing in South Africa. Agricultural Research Council, South Africa, pp.11-17.
- Rocuzzo, G., Rapisarda, P., Giuffrida, A., Calabretta, M.L. e Intrigliolo, F. 2000. I livelli di clorofilla nelle foglie di limone come indicatore dello stato nutrizionale azotato. *V Giornate Scientifiche SOI.* 2:577-578.
- Rossouw, T., Robbertse, P.I., Kremer-Köhne, S. and Köhne, J.S. 2000. Effect of gibberellic acid treatments on flowering of avocado. *South African Avocado Growers Association Yearbook* 23, 43-45.
- Rowlands, D. 1994. Efecto del anillado, doble incisión anular y aplicaciones de Cuitar en ramas de paltos (*Persea americana* Mili.) cv. Hass. Tesis Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 102p.
- Salazar-García, S. 2000. Fisiología reproductiva del aguacate. In: Telíz, D. ed. El aguacate y su manejo integrado. México, Mundi- Prensa. pp.57-83.
- Salazar-García, S. and Lovatt, C.J. 1998. GA3 application alters flowering phenology of the 'Hass' avocado. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123:791-797.

- Salazar-García, S. and Lovatt, C.J.** 1999. Winter trunk injections of gibberellic acid<sup>3</sup> altered the fate of 'Hass' avocado buds: effects on inflorescence type, number and rate of development. *J. Hort. Sci. & Biotech.* 74:69-73.
- Salazar-García, S. and Lovatt, C.J.** 2000. Use of GA<sub>3</sub> to manipulate flowering and yield of 'Hass' avocado. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125:25-30.
- Salazar-García, S., Lord, E.M. and Lovatt, C.J.** 1998. Inflorescence and flower development of the 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.) during "on" and "off" crop years. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123:537-544
- Salazar-García, S., Lord, E.M. and Lovatt, C.J.** 1999. Inflorescence development of the 'Hass' avocado: commitment to flowering. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 124:478-482.
- Schaffer, B., Ramos, L. and Lara, S.P.** 1987. Effect of fruit removal on net gas exchange of avocado leaves. *HortScience* 22:925-927.
- Schaffer, A.A., Liu, K.C., Goldschmidt, E.E., Boyer, C.D. and Goren, R.** 1986. Citrus leaf chlorosis by sink removal: starch, nitrogen, and chloroplast ultrastructure. *Journal of Plant Physiology* 124, 111-121.
- Schaffer, B., Whiley, A.W. and Searle, C.** 1999. Atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment, root restriction, photosynthesis and dry matter partitioning in subtropical and tropical fruit crops. *HortScience* 34:1033-1037.
- Scholefield, P.B., Walcott, J.J., Kriedemann, P.E. and Ramadasan, A.,** 1980. Some environmental effects on photosynthesis and water relations of avocado leaves. *California Avocado Society Yearbook* 64, 93-105.
- Scholefield, P.B., Sedgley M. and Alexander, D.McE.,** 1985. Carbohydrate cycling in relation to shoot growth, floral initiation and development and yield in the avocado. *Scientia Horticulturae* 25, 99-110.
- Schroeder, C.A.** 1953. Growth and development of the 'Fuerte' avocado fruit. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 68:253-258.
- Scora, R.W., Wolstenholme, B.N. and Lavi, U.** 2000. Taxonomy and Botany. En: *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Azcón-Bieto, J. y Talón, M. (eds.). McGraw-Hill Interamericana, Barcelona, pp. 15-37.
- Sedgley, M. and Alexander, D.M.** 1983. Avocado breeding research in Australia. *Calif. Avocado Soc. Yrbk.* 67:129-135.
- Sedgley, M. and Grant, W. J. R.** 1983. Effect of low temperatures during flowering on floral cycle and pollen tube growth in nine avocado cultivars. *Scientia Horticulturae*, 18: 207-13.
- Siebke, K., Von Caemmerer, S., Badger, M. and Furbank, R.T.** 1997. Expressing RbcS antisense gene in transgenic *Flaveria bidentis* leads to an increase quantum requirement for CO<sub>2</sub> fixed in photosystems I and II. *Plant Physiology* 105, 1163-1174.
- Singha, S. and Townsend, C.** 1989. Relationship between chromaticity values and chlorophyll concentration in apple, grape, and peach leaves. *HortScience*. 24:1034-1038.
- Smile, R.M., Hetherington, S.E., He, J. and Nott, R.** 1988. Photoinhibition at chilling temperatures. *Australian Journal of Plant Physiology* 15, 207-222.
- Stewart, I. and Wheaton T.A.** 1967. Nitrogen metabolism studies in Citrus. Proc. XVII Int. Hort. Congr. 3,171-183.
- Stewart, I., Wheaton, T.A. and Reese, R.L.** 1968. 'Murcott' collapse due to nutritional deficiencies. Proceedings of the Florida State Horticultural Society. 81 15-18
- Stitt, M.** 1991. Rising CO<sub>2</sub> levels and their potential significance for carbon flow in photosynthetic cells. *Plant Cell Environ.* 14:741-762.
- Stoop J.M.H., Williamson J.D., Pharr D.M.** 1996. Mannitol metabolism in plants: a method for coping with stress. *Trends Plant Sci* 1:139-144.
- Symons, P. and Wolstenholme, B.** 1990. Field trial using paclobutrazol foliar sprays on hass avocado trees. South African Avocado Growers. Association Yearbook vol 13: 1990
- Syvrtsen, 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 Physiology* 23, 899-906.

- 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 bases supporting the “competition hypothesis”. *Proceedings of the IX Congress of the International Society of Citriculture*, Orlando-Florida, EEUU, 602-604.
- Tartachnyk, I.I. and Blanke, M.M.** 2004. Effect of delayed fruit harvest on photosynthesis, transpiration and nutrient remobilization of apple leaves. *New Phytologist* 164, 441-450.
- Taylor, A.O. and Rowley, J.A.** 1971. Plants under climatic stress. I. Low temperature, high light effects on photosynthesis. *Plant Physiol.* 47, pp. 713–718.
- Telfer, A., Dhami, S., Bishop, S.M., Phillips, D. and Barber, J.** 1994. Carotene quenches singlet oxygen formed by isolated photosystem II reaction centers. *Biochemistry* 33, 14469-14474.
- Thorp, T. G., Aspinall, D. and Sedgley, M.** 1993. Influence of shoot age on floral development and early fruit set in avocado (*Persea americana* Mill.) cv. 'Hass'. *J.Hort. Sci.* 68:645-651.
- Thorp, T. and Sedgley, M.** 1992. Shoot growth and tree architecture in range of avocado cultivars. In: Proceedings of Second World Avocado Congress. California 1992. pp. 237-240.
- Ticho, R.** 1970-71. Girdling, a means to increase avocado fruit production. *California Avocado Society* 54:90-94
- Toumey, J.** 1980. Girdling a forgotten art. *Avocado Grower Magazine* 4 (10):12-14.
- Urban, L., Léchaudel, M. and Lu, P.** 2004. Effect of fruit load and girdling on leaf photosynthesis in *Mangifera indica* L. *Journal of Experimental Botany* 55, 2075-2085.
- Van der Walt, M., Davie, S.J. and Smith, D.G.** 1993. Carbohydrate and other studies on alternate bearing Fuerte and Hass avocado trees. *South African Avocado Growers' Association Yearbook* 16: 82-85.
- Van Rensburg, L., Krüger, G.H.J. and Krüger, H.** 1993. Proline accumulation as drought tolerance selection criterion: Its relationship to membrane integrity and chloroplast ultrastructure in *Nicotiana tabacum* L. *Journal of Plant Physiology* 141, 188-194.
- Van Schaik, C.P., Terborgh, J.W. and Wright, S.J.** 1993. The phenology of tropical forest: adaptive, significance and consequences for primary consumers. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*
- Völker, M.** 2003. Evaluación del uso del uniconazole – p sobre la productividad y desarrollo del palto cv. Hass. Tesis Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 88p
- Vu J.C.V., Yelenosky, G. and Bausher, M.G.** 1985 Photosynthetic activity in the flower buds of Valencia orange (*Citrus sinensis* [L.] osbeck). *Plant Physiol* 78: 420-423
- Weiler, E.** 1979. An enzyme-immunoassay for cis-(+) abscisic acid. *Physiologia Plantarum* 54, 510-514.
- Whiley, A.W.,** 1990. CO<sub>2</sub> assimilation of developing fruit shoots of cv Hass avocado (*Persea americana* Mill.) - A preliminary report. S.A. *Avocado Growers' Assn. Yrbk.* 13,28-30.
- Whiley, A.W.,** 1994. Ecophysiological studies and tree manipulation for maximisation of yield potential in avocado (*Persea americana* Mill.). Ph.D. Thesis. University of Natal, Pietermaritzburg, South Africa.
- Whiley, A.W. and Schaffer, B.** 1993. <sup>14</sup>C-Photosynthate partitioning in avocado trees as influenced by shoot development. *HortScience* 28(8):850-852
- Whiley, A.W. and Schaffer, B.** 1994. Avocado. In: Schaffer, B., Anderson, P. (eds.). Handbook of Environmental Physiology of Fruit Crops, Vol 2. Subtropical and Tropical Crops. CRC Press, Boca Raton, Florida. Pp. 3-35.
- Whiley, A.W. and Winston, E. C.** 1987. Effect of temperature at flowering on varietal productivity in some avocado-growing areas in Australia. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 10s 45-7.
- Whiley, A.W., and B.N, Wolstenholme.** 1990. Carbohydrate management in avocado trees for increased production. *South African Avocado Growers Association Yearbook* 13: 25 - 27.

- Whiley, A.W., and B.N. Wolstenholme.** 1992. Effect of paclobutrazol bloom sprays on fruit yield and quality of cv. Hass avocado growing in subtropical climates. Proc. of Second World Avocado Congress Pp. 227-232.
- Whiley, A.W., Chapman, K. and Saranah, J.** 1988. Water loss by floral structures of avocado cv. Fuerte during flowering. *Australian Journal of Agricultural Research* 39; 457-467.
- Whiley, A., Saranah, J. and Wolstenholme, B.N.** 1992. Effect of paclobutrazol bloom sprays on fruit yield and quality of cv. Hass avocado growing in subtropical climates. Proc. Of Second World Avocado Congress. Pp 227-232.
- Whiley A.W., Schaffer, B. and Lara, S.P.** 1992. Carbon dioxide exchange of developing avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. *Tree Physiology* 11, 85-94.
- Whiley A.W., Searle, C., Schaffer, B. and Wolstenholme, B.N.** 1999. Cool orchard temperatures or growing trees in containers can inhibit leaf gas exchange of avocado and mango. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124, 46-51.
- Whiley A.W., Rasmussen T., Saranah J., Wolstenholme, B.** 1996a. Delayed harvest effects on yield, fruit size and starch cycling in avocado (*Persea americana* Mill.) in subtropical environments. I. The early-maturing cv. Fuerte. *Scientia. Hort.* 66:23-34.
- Whiley A.W., Rasmussen T., Saranah J., Wolstenholme, B.** 1996b. Delayed harvest effects on yield, fruit size and starch cycling in avocado (*Persea americana* Mill.) in subtropical environments. II. The late-maturing cv. Hass. *Scientia. Hort.* 66:35-49.
- Whiley, A.W., Saranah, J.B., Cull, B.W. and Pegg, K.G.,** 1988. Manage avocado tree growth cycles for productivity gains. *Queensland Agricultural Journal*, 114, 29-36
- Whiley, A.W., Saranah, J.B., Wolstenholme, B.N. & Rasmussen, T.S.** 1991. Use of paclobutrazol sprays at mid-anthesis for increasing fruit size and yield of avocado (*Persea americana* Mill. Cv. Hass). *Journal of Horticultural Science* 66, 593-600.
- Wilhelmy, C.** 1995. Efecto del anillado y de la doble incisión anular sobre la floración de paltos rebajados, cv. Hass. Efecto del anillado, doble incisión y paclobutrazol sobre la cuaja de paltos rebajados cv. Hass. Taller de Licenciatura Ing. Agr. Quillota. Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía. 144p
- Wolstenholme, B.N., Whiley, A.W. and Saranah, J.B.** 1990. Manipulating vegetative:reproductive growth in avocado (*Persea americana* Mill.) with paclobutrazol foliar sprays. *Scientia Horticulturae* 41, 317-327.
- Wolstenholme, B.N. and Whiley, A. W.** 1989. Ciclos de carbohidratos y fenológicos como herramientas de manejo para los huertos de paltos. Asociación de Cultivadores de Paltos de Sud África. *Yrbk.* 12: 33-37.
- Wolstenholme, B.N.** 1986. Energy costs of fruiting as a yield-limiting factor with special reference to avocado. *Acta Horticulturae* 175, 121-126.
- Wolstenholme, B. N.** 1987. Theoretical and applied aspects of avocado yield as affected by energy budgets and carbon partitioning. South African Avocado Growers'Association Yearbook, 10:58-61.
- Wolstenholme B. N.** 1990. Resource allocation and vegetative reproductive competition: opportunities for manipulation in evergreen fruit trees. *Acta Horticulturae* 275:451-459.
- Wood, C.W., D.W. Reeves, R.R. Duffield and K.L. Edminsten.** 1992. Field chlorophyll measurements for evaluation of corn nitrogen status. *Journal of Plant Nutrition.* 15(4):487-500.
- Wright, C.J.** 1989. Interactions between vegetative and reproductive growth. In: Manipulation of fruiting. Wright, C.J. (ed). B butter worths. pp. 15-27.
- Wünsche, J.N., Palmer, J.W. and Greer, D.H.** 2000. Effect of crop load on fruiting and gas-exchange characteristics of 'Braeburn'/M.26 apple trees at full canopy. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125, 93-99.
- Yadava, U.L.** 1986. A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves, *HortScience* 21 (1986) (6), pp. 1148-1150.
- Yuan, L. and Xu, D.Q.** 2001. Stimulation effect of gibberellic acid short term treatment on leaf photosynthesis to increase in Rubisco content in broad bean and soybean. *Photosynthesis Research* 68, 39-47.



- Zacarías L., Talón, M., Ben-Cheikh W., Lafuente M.T. and Primo-Millo, E.** 1995. Abscisic acid increases in nongrowing and paclobutrazol treated fruits of seedless mandarins. *Physiologia Plantarum* 95, 613-619.
- Zhou, R. and Quebedeaux, B.** 2003. Changes in photosynthesis and carbohydrate metabolism in mature apple leaves in response to whole plant source-sink manipulation. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 128,113-119.