



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior  
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica  
y del Medio Natural

Control endógeno de la partenocarpia en el aguacate

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ingeniería Agronómica

AUTOR/A: García Alfonso, Guillem

Tutor/a: Reig Valor, Carmina

Cotutor/a: Agustí Fonfría, Manuel

CURSO ACADÉMICO: 2021/2022

**TÍTULO:** Control exógeno de la partenocarpia en el aguacate.

**RESUMEN:** La aplicación repetida de ácido giberélico ( $GA_3$ ) a una concentración de  $50 \text{ mg l}^{-1}$  durante el periodo de floración, desde la flor en preantesis hasta su antesis, provoca la partenocarpia en el aguacate, tal como ocurre en otros frutales de cuajado sexual. Mediante esta técnica se consiguen obtener frutos sin semillas, conocidos como *paltines*, que, de acuerdo con las exigencias del mercado, resultan de especial interés para el sector productor. Pero el tamaño alcanzado por éstos es insuficiente y no alcanza el calibre comercial exigido. Es por ello, que en este trabajo se plantea mejorar el tamaño de los *paltines* mediante la aplicación de 2 auxinas de síntesis después de la primera caída fisiológica del fruto. Por una parte, se aplica 2,4-DP a una concentración de  $25 \text{ mg l}^{-1}$  y, por otra, 3,5,6-TPA a  $15 \text{ mg l}^{-1}$ . En ambos casos se consigue mejorar significativamente el diámetro ecuatorial y longitudinal respecto del control en un 10% y 4%, respectivamente para el 2,4-DP y en un 13% y 12% para el 3,5,6-TPA. En consecuencia, el peso del fruto aumenta en un 24% y 47%, respectivamente, respecto del control. Con el fin de estudiar si la ausencia de semilla influye en el contenido de materia grasa, se determina el % de materia seca de los frutos. Adicionalmente, se estudia si el mecanismo de acción de las giberelinas en la obtención de frutos partenocárpicos de aguacate es a través de desacoplar el periodo de polinización efectiva (PPE), como ocurre en otras especies frutales. Para ello, se estudia el contenido hormonal y nutricional de los frutos a lo largo del cuajado y desarrollo del mismo, así como se determina, mediante microscopía de fluorescencia, la presencia de calosa en los óvulos de los frutos tratados que indica la degeneración de los mismos y, en consecuencia, el desacople del PPE.

**PALABRAS CLAVE:** partenocarpia, auxinas, calosa, polinización

**TITLE:** Exogenous control of parthenocarpy in avocado.

**SUMMARY:** The repeated application of gibberellic acid ( $GA_3$ ) at a concentration of  $50 \text{ mg l}^{-1}$  during the flowering period, from the flower in pre-anthesis to its anthesis, causes parthenocarpy in avocado, as it occurs in other fruit set. sexual. Through this technique, it is possible to obtain seedless fruits, known as paltines, which, in accordance with market demands, are of special interest to the producing sector. However, the size reached by these is insufficient and does not reach the required commercial caliber. Therefore, in this work, it is proposed to improve the size of the pallets by applying 2 synthetic auxins after the first physiological fall of the fruit. On one hand, 2,4-DP will be applied at a concentration of  $25 \text{ mg l}^{-1}$  and, on the other hand, 3,5,6-TPA at  $15 \text{ mg l}^{-1}$ . In both cases, it was possible to significantly improve the equatorial and longitudinal diameter with respect to the control by 10% and 4%, respectively for 2,4-DP and by 13% and 12% for 3,5,6-TPA. Consequently, fruit weight increased by 24% and 47%, respectively, compared to the control. In order to study if the absence of seed influences the fat content, the % dry matter of the fruits will be determined. Additionally, it will be studied if the mechanism of action of gibberellins in obtaining parthenocarpic avocado fruits is through uncoupling the effective pollination period (EPP), as occurs in other fruit species. For this, the hormonal and nutritional content of the fruits will be studied throughout the fruit set and its development, as well as the presence of callose in the ovules of the treated fruits, which indicates the degeneration of the ovules, will be determined by fluorescence microscopy. themselves and, consequently, the decoupling of the EPP.

**KEY WORDS:** parthenocarpy, auxins, callose, pollination

# ÍNDICES

# ÍNDICE GENERAL

I INTRODUCCIÓN .....	1
1. El cuajado en el aguacate.....	1
1.1. Cuajado sexual.....	1
1.2. Cuajado asexual.....	2
2. Factores relacionados con el proceso .....	3
2.1. Factores ambientales .....	3
2.2. Factores nutricionales .....	3
2.3. Factores hormonales.....	4
2.4. Factores genéticos.....	4
3. La obtención de frutos partenocárpicos ( <i>paltines</i> ).....	4
4. Técnicas de mejora de la calidad de los <i>paltines</i> .....	5
II OBJETIVOS .....	6
III MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
1. Material vegetal .....	7
2. Diseño del experimento .....	7
3. Determinaciones analíticas .....	7
3.1. Análisis de carbohidratos.....	7
3.2. Análisis de hormonas vegetales. ....	8
3.3. Análisis del porcentaje de grasa.....	9
4. Microscopía óptica de fluorescencia.....	9
IV RESULTADOS .....	10
1. Efecto de la aplicación de GA <sub>3</sub> sobre el desarrollo vegetativo y reproductivo. ....	10
2. Efecto de la aplicación de GA <sub>3</sub> en el contenido hormonal de los ovarios. ....	13
3. Efecto de la aplicación de GA <sub>3</sub> sobre el metabolismo de los azúcares .....	15
4. Alteraciones morfológicas derivadas de la aplicación repetida de GA <sub>3</sub> .....	19
5. El aumento del tamaño de los paltines. Efecto de las auxinas de síntesis. ....	19
V DISCUSIÓN.....	22
VI CONCLUSIONES .....	25
VII BIBLOGRAFÍA.....	26

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Frutos partenocárpicos (paltines) del cv. Bacon.....	2
<b>Figura 2.</b> Efecto de cuatro aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) en el número de flores por brazo de una inflorescencia de aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de 5 árboles y 5 ramas por árbol. Las barras verticales indican el error estándar. La diferencia entre tratamientos es estadísticamente significativa (P<0.05).....	10
<b>Figura 3.</b> Efecto de cuatro aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) en el peso de las flores del aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de las flores de 5 ramas por árbol y de 5 árboles. Las barras verticales indican el error estándar. La diferencia entre tratamientos es estadísticamente significativa (P<0.05).....	11
<b>Figura 4.</b> Efecto de cuatro aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) en el peso medio de los brazos de las inflorescencias del aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de los brazos de 5 panículas por árbol y de 5 árboles. Las barras verticales indican el error estándar. La diferencia entre tratamientos es estadísticamente significativa (P<0.05) .....	11
<b>Figura 5 .</b> Efecto de tres aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) en la longitud media de los brazos de las inflorescencias del aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de 5 inflorescencias por árbol y 5 árboles. Las barras verticales indican el error estándar. La diferencia entre tratamientos es estadísticamente significativa (P<0.05).....	11
<b>Figura 6.</b> Efecto de tres aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) en el peso medio de los frutos recién cuajados del aguacate ‘Hass’. Valores correspondientes a los diez días de la antesis. Cada valor es la media de 3 frutos por árbol y tratamiento.. Las barras verticales indican el error estándar. Ladiferencia entre tratamientos es estadísticamente significativs (P<0.05)....	12
<b>Figura 7.</b> Fluorescencia emitida por la presencia de callosa en el óvulo de una flor de un árbol control (izquierda) y tratado 3 veces con GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) (derecha). La mayor fluoescencia emitida por el óvulo tratado indica su estado avanzado de degeneración. ....	12
<b>Figura 8.</b> Efecto de tres aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el contenido de GA <sub>1</sub> en las flores del aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de 4 repeticiones biológicas y 2 réplicas técnicas. Las barras verticales indican el error estándar. * indican diferencias significativas (P<0.05). .....	13
<b>Figura 9.</b> Efecto de tres aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH), hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el contenido de IAA en las flores del aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de 4 repeticiones biológicas y 2 réplicas técnicas. Las barras verticales indican el error estándar. * indican diferencias significativas (P<0.05) .....	14
<b>Figura 10.</b> Efecto de tres aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH), hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el contenido de tZ en las flores del aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de 4 repeticiones biológicas y 2 réplicas técnicas. Las barras verticales indican el error estándar. * indican diferencias significativas (P<0.05) .....	14

<b>Figura 11.</b> Efecto de tres aplicaciones de GA <sub>3</sub> a (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el metabolismo de la sacarosa en las flores del aguacate 'Hass. Cada valor es la media de 4 repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar. * indican diferencias significativas (P<0.05) .....	15
<b>Figura 12.</b> Efecto de tres aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el metabolismo de la glucosa en las flores del aguacate 'Hass. Cada valor es la media de 4 repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar. * indican diferencias significativas (P<0.05) .....	16
<b>Figura 13.</b> Efecto de tres aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el metabolismo de la fructosa en las flores del aguacate 'Hass. Cada valor es la media de 4 repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar. * indican diferencias significativas (P<0.05).....	17
<b>Figura 14.</b> Efecto de tres aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el metabolismo de la manoheptulosa en las flores del aguacate 'Hass. Cada valor es la media de 4 repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar. * indican diferencias significativas (P<0.05) .....	18
<b>Figura 15.</b> Efecto de tres aplicaciones de GA <sub>3</sub> (50 mg l <sup>-1</sup> ) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el metabolismo del perseitol en las flores del aguacate 'Hass. Cada valor es de 4 repeticiones . Las barras verticales indican el error estándar. * indican diferencias significativas (P<0.05) .....	18
<b>Figura 16.</b> Vista lateral (A), frontal (B) y corte transversal (C) de la flor mostrando el pistilo (p) y los tépalos (t) engrosados. ....	19
<b>Figura 17.</b> Efecto de la aplicación de 15 mg l <sup>-1</sup> de 3,5,6-TPA y 25 mg l <sup>-1</sup> de 2,4-DP al inicio de la fase lineal del desarrollo del fruto en el diámetro final de los paltins. Cada valor es la media de 10 frutos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05) .....	20
<b>Figura 18.</b> Efecto de la aplicación de 15 mg l <sup>-1</sup> de 3,5,6-TPA y 25 mg l <sup>-1</sup> de 2,4-DP al inicio de la fase lineal del desarrollo del fruto en el peso final de los paltines. Cada valor es la media de 10 frutos para el 24 de noviembre. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05).....	20
<b>Figura 19.</b> Aspecto de un corte longitudinal y transversal de frutos de aguacate aspermos del cv. 'Hass' por acción de tratamientos repetidos con GA <sub>3</sub> (25 mg l <sup>-1</sup> ) durante la pre- y post-antesis y tratados con 3,5,6-TPA (15 mg l <sup>-1</sup> ) o 2,4-DP (25 mg l <sup>-1</sup> ) al inicio de la fase lineal de crecimiento .....	21

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Efecto de la aplicación de 15 mg l <sup>-1</sup> de 3,5,6-TPA y y 25 mg l <sup>-1</sup> de 2,4-DP al inicio del desarrollo del fruto sobre las características físicas y contenido en grasa de los paltines y frutos con semilla del aguacate 'Hass' .....	21
--	----



# I INTRODUCCIÓN

## 1. El cuajado en el aguacate

El aguacate, *Persea americana* Mill, pertenece al orden Laurales, familia Lauraceae. De árboles vigorosos, que pueden alcanzar hasta 20 m de altura, perennifolios, de hojas grandes, de color verde oscuro, y tronco robusto con corteza de color pardo y raíces cortas, débiles y raíces superficiales.

Las flores del aguacate son hermafroditas y presentan un periantio con 6 tépalos, de color verde pálido, tres de los cuales hacen la función de sépalos y los otros tres de pétalos, un androceo con 12 estambres, de los que sólo 9 poseen anteras funcionales, y un pistilo con un único estilo y estigma y un ovario de un solo óvulo.

A pesar de su hermafroditismo, la autofecundación es muy difícil (Calabrese, 1992). Esta especie se caracteriza por presentar dicogamia, es decir, un desfase entre la maduración de la parte masculina y femenina en el interior de una misma flor, sincronización diurna, ya que todas las flores de un mismo árbol actúan como femeninas en un mismo momento del día y como masculinas en otro, y protoginia, debido a que la apertura de flor femenina es previa a la masculina. En el caso de que todos los cultivares tuviesen el mismo funcionamiento floral en sus dos fases (masculina y femenina) no se podría producir la polinización, y, por tanto, la fecundación. La realidad es que existen dos tipos de cultivares de aguacate con comportamiento floral diferente, A y B, cuya viabilidad floral no coincide y cuando las flores del grupo A ejercen como femeninas (estigma receptivo) las del grupo B ejercen como masculinas soltando polen, y viceversa; lo que posibilita que se produzca la polinización cruzada entre los dos tipos de cultivares. En condiciones de clima cálido, de 25°C durante el día y 15°C durante la noche, esta práctica se produce de forma regular (Agustí, 2010).

Las flores con comportamiento femenino muestran el estigma blanquecino y el pistilo erecto, mientras que los estambres se encuentran reposados sobre los tépalos. Cuando la flor se abre como masculina su aspecto es diferente al anterior, siendo en este caso el pistilo marrón y 3 de las anteras en proximidad al pistilo mientras que las otras 6 aparecen torcidas (Bringhurst, 1952). Pese a que esta especie puede llegar a producir miles de inflorescencias y cada una de ellas puede contener más de 100 flores de media alcanzando un millón o más de flores por árbol (Sedgley, 1980), el porcentaje de cuajado es muy bajo, alcanzando valores entre 0.07% y 0.001% (Cameron et al., 1952; Inoue y Takahashi, 1990) (Alcaraz et al., 2013a)

### 1.1. Cuajado sexual

La transición del ovario de la flor a fruto en desarrollo se conoce como cuajado sexual y está regulado por la fecundación. Para que esto se produzca, tal como se ha explicado anteriormente, tienen que existir dos grupos de cultivares (A y B) con distinto comportamiento floral. Los cultivares del tipo A sus flores abren por la mañana como femeninas con el estigma receptivo y las anteras no dehiscentes. Al mediodía las flores se cierran; y pasadas 24 horas, se vuelven abrir

con el estigma no receptivo, pero con las anteras dehiscentes, y, por tanto, liberando polen. Los cultivares del tipo B, las flores abren por primera vez al mediodía con la parte femenina receptiva mientras la parte masculina no es útil. Al final de la tarde se cierra para volverse a abrirse 12 horas más tarde con funcionalidad masculina. De esta manera, la coexistencia de ambos comportamientos florales permite la polinización cruzada y, por tanto, la fecundación.

En consecuencia, si su comportamiento floral fuese estricto, sería necesario la fecundación cruzada (Goldring et al., 1987). No obstante, este fenómeno es variable según las condiciones ambientales, principalmente la temperatura (Ish Am y Eisikowih, 1991; Sedgley, 1977b; Sedgley y Annells, 1981). De este modo puede existir un periodo de solape entre las fases masculina y femenina de una flor que puede, así autofecundarse, y algunas parcelas monovarietales ser productivas.

### 1.2. Cuajado asexual

El cuajado asexual o partenocarpia es un fenómeno que da paso a la formación de fruto en ausencia de semillas y, por tanto, sin previa fecundación (Baldini, 1992). La partenocarpia puede ser inducida si la deposición del grano de polen, su germinación o el desarrollo del tubo polínico, sin alcanzar al óvulo, promueven los estímulos suficientes para que el ovario inicie su desarrollo, y autónoma si el desarrollo del ovario se realiza sin estímulo externo alguno. En ocasiones, tras la fecundación del ovario y con las semillas iniciando el desarrollo, el embrión aborta éstas detienen su crecimiento permaneciendo como meros rudimentos seminales; a este fenómeno se le conoce como estenospermocarpia. Según Razeto (1987), algunas variedades de aguacate, principalmente 'Fuerte', presentan una marcada predisposición a la producción de frutos partenocárpicos o *paltines*. (Figura 1)



**Figura 1.** Frutos partenocárpicos (*paltines*) del cv. Bacon.

En el caso de esta especie éstos pueden ser *frutos jóvenes degenerados*, en los que tras la fecundación el endospermo, el embrión o ambos degeneran, o partenocárpicos, *con el ovario hinchado*, pero sin embrión ni endospermo.

Un factor decisivo en el proceso de cuajado es la temperatura. Valores de temperaturas templadas (17°C día/12°C noche, o inferiores) durante la floración y primeras fases del desarrollo del ovario tiene un efecto dañino sobre el cuajado porque modifican el normal desarrollo de los órganos reproductivos. Asimismo, la exposición a regímenes cálidos (32-33°C día/27-28°C noche) durante la floración también ejerce un efecto dañino sobre los órganos reproductivos, principalmente durante la polinización. Temperaturas en torno a los 45°C tienen efectos catastróficos en los frutos jóvenes, debido a que inducen su abscisión en la mayoría de los casos como consecuencia de la degeneración de la nucela (Argaman y Gazit, 1982).

## 2. Factores relacionados con el proceso

### 2.1. Factores ambientales

Como se ha comentado anteriormente la temperatura es un factor determinante en el proceso de cuajado. Las altas temperaturas junto a una baja humedad relativa aumentan la transpiración de las hojas, produciendo la pérdida de agua. Como consecuencia, se produce una disminución del potencial hídrico de las hojas que da lugar a un cierre temporal de los estomas. La disminución de la conductancia estomática conlleva la reducción de los contenidos gaseosos, con la consiguiente pérdida de asimilación neta de CO<sub>2</sub> en un periodo en que los frutos en desarrollo presentan una alta demanda de fotoasimilados.

Como se ha indicado, tanto las altas como las bajas temperaturas tienen un efecto dañino sobre la polinización, fecundación y supervivencia de los frutos jóvenes, reduciendo el cuajado. En cambio, si las condiciones ambientales son favorables, para promover el cuajado es imprescindible garantizar una buena polinización potenciando la actividad de los insectos polinizadores durante la floración.

### 2.2. Factores nutricionales

El aguacate tiene tendencia a florecer copiosamente, produciendo un número excesivo de flores de hasta más de 1000 veces superior a la cantidad de frutos que el árbol puede cargar. Terminada la floración, el número de frutos recién cuajados es muy superior al número de los que finalmente completan su desarrollo y son recolectados. La abscisión intensa de frutos que, principalmente, se produce durante el primer mes de cuajado reduce drásticamente el número de frutos que inician la fase II de su desarrollo. Después, coincidiendo con el fuerte desarrollo de los brotes vegetativos, la abscisión continua de forma más lenta y finaliza cuando los frutos están alcanzando la madurez. Esta segunda caída de frutos se corresponde con frutos de 3-4 meses de edad y un peso de 50-100g (Lahav y Zamet, 1999).

Los estudios de Sedgley (1987) determinaron 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, todos los frutos caídos habían sido fertilizados y presentaban un normal desarrollo del embrión y del endospermo.

Muchos estudios sugieren que el aborto de frutos estar causado por un límite de recursos nutricionales (Stephenson, 1981). La baja disponibilidad de carbohidratos puede limitar el número de flores ya que se ha encontrado una correlación positiva entre el contenido de almidón en la madera del brote y el número de flores desarrolladas (Duchene et al., 2003). Además, estos carbohidratos tienen que repartirse entre los frutos que están cuajando, los que ya están en desarrollo y el crecimiento vegetativo que se produce simultáneamente (Whiley, et al., 2007).

Números estudios sugieren que la abscisión de frutitos podría deberse a una falta de carbohidratos (García-Luis et al., 1988; Jean y Lapointe, 2001; Stephenson, 1981) ya que el fruto y el desarrollo vegetativo demandan grandes cantidades de energía. Sin embargo, en el aguacate se ha demostrado que la disponibilidad de carbohidratos es suficiente para sustentar el crecimiento de frutos y hojas durante el cuajado. A la vista de ello parece que el cuajado de esta especie solo sea una cuestión nutricional (Finazzo et al., 1994). Sin embargo, en este estudio se demuestra que ningún sumidero tuvo limitaciones nutricionales durante el periodo más crítico del desarrollo.

### 2.3. Factores hormonales

La regulación del cuajado de los frutos está determinada, en gran medida, por su capacidad de síntesis hormonal, principalmente de giberelinas. Esta síntesis se produce en el embrión de las semillas, pero en los frutos partenocárpicos son las paredes del ovario las que adquieren esta función, permitiendo al ovario iniciar su desarrollo.

La posibilidad de que el proceso sea iniciado por las auxinas ha sido estudiada en diferentes especies hortícolas (García-Martínez y Carbonell, 1980; Ozga y Reinecke, 1999; Homan, 1964; Alabadi et al., 1996) y en los frutales (Bermejo et al., 2018), pero no se tiene conocimiento de su papel en el cuajado del aguacate.

### 2.4. Factores genéticos

Factores genéticos relacionados con la compatibilidad gamética, esto es, los mecanismos de incompatibilidad y reconocimiento genético polen-pistilo, determinan el cuajado, ya que pueden interferir en el desarrollo del tubo polínico y dificultar, por tanto, la fecundación.

Los genes de la ruta de síntesis de las giberelinas son los que ejercen el control del cuajado de la mayoría de las especies frutales. En la actualidad, se conocen los genes que codifican para la síntesis de los enzimas implicados en dicha. La GA20-oxidasa cataliza las reacciones implicadas en las sucesivas etapas de oxidación del carbono 20 entre GA<sub>53</sub> y GA<sub>20</sub>, la GA3-oxidasa que funciona como una 3B-hidroxilasa añadiendo un grupo hidroxilo al carbono 3 para formar la GA<sub>1</sub> y, finalmente, la GA2-oxidasa, que cataboliza a la GA<sub>1</sub> (Taiz y Zeger, 2006).

## 3. La obtención de frutos partenocárpicos (*paltines*).

La reducción de la temperatura hasta valores tan bajos como 16°-17°C provoca la desorganización del saco embrionario, las altas temperaturas (30°C día/22°C noche) reducen la viabilidad del polen y, con ello, su capacidad de germinar, y temperaturas superiores a los 35°C, durante 2h, detienen el crecimiento de los tubos polínicos de algunos cultivares (Gafni, 1984).

En consecuencia, las alteraciones térmicas pueden dificultar el cuajado hasta casi anularlo. Este fenómeno se evidencia notablemente en el cv. Fuerte (Sedgley, 1986) que, por otra parte, es proclive a la partenocarpia, produciendo un número considerable de *paltines*.

La aplicación repetida de GA<sub>3</sub> para desacoplar el periodo de polinización efectiva, evitando la fecundación del óvulo y provocando la partenocarpia, ha sido utilizada en numerosas especies, como los cítricos (Talón et al., 1992), la uva (Pratt y Shaulis, 1961), el níspero japonés (Mesejo et al., 2010)

Muchos autores incluyen en sus estudios la obtención de frutos partenocárpicos, debido a que la ausencia de semilla en los frutos es un factor de calidad. Los actuales consumidores de frutas prefieren frutos sin semillas debido a su fácil consumo. La ausencia de semilla en el caso del aguacate implica unas mayores cotizaciones en los mercados debido al pequeño tamaño de los frutos obtenidos.

#### 4. Técnicas de mejora de la calidad de los *paltines*

El tamaño de los frutos representa uno de los factores más importantes en cuanto a la calidad de un fruto que se consume en fresco. Y existen diferentes técnicas con capacidad para mejorar el tamaño, como el anillado (Cohen, 1984), la aplicación de sustancias de aclareo (Wheaton, 1981; Gallasch, 1988; Agustí et al., 1996) y la aplicación de sustancias potenciadoras del crecimiento de los frutos.

Las auxinas han sido utilizadas ampliamente en diferentes especies para el aclareo químico. El mecanismo de acción de estas sustancias se ha sugerido a través de un aumento de la capacidad sumidero de las hojas, que, a su vez, reduce el transporte de metabolitos al fruto (Iwahori, 1978). Pero un aumento significativo de la fruta se consigue solo con reducciones de frutos en torno al 50-60% del total y siempre que se realice en estados precoces del desarrollo; se ha demostrado tanto manualmente (Zaragoza et al., 1992; Havis, 1962) como químicamente (Agustí et al., 1995a; 1995b; 2000; Blanco, 1987).

Los experimentos con auxinas de síntesis han permitido, modificando la fecha del tratamiento, evitar la abscisión de frutos y potenciar el desarrollo del fruto aumentando su tamaño final (Agustí et al., 1995b). La época de aplicación se sitúa al final de la fase de división celular, lo que provoca un estímulo de la elongación celular (El-Otmani et al., 1993) a través de la reducción del su potencial hídrico vía reducción de la presión parietal (Reig et al., 2016)

Las auxinas de síntesis 2,4-DP y 3,5,6-TPA son ampliamente utilizadas en fruticultura como potenciadores del tamaño final de los frutos (Agustí et al., 1996).

## II OBJETIVOS

En este estudio se pretende promover la partenocarpia en el aguacate para producir *paltines* de calidad comercial, para lo cual se plantean los siguientes objetivos:

- Desacoplar el periodo de polinización efectiva mediante la aplicación foliar de GA<sub>3</sub> durante la floración e inicio de cuajado.
- Aumentar el tamaño final de los *paltines* mediante la aplicación de auxinas de síntesis.

### III MATERIALES Y MÉTODOS

#### 1. Material vegetal

El experimento se llevó a cabo en una plantación comercial de aguacate (*Persea americana* Mill) de 60 ha situada en el término municipal de Puçol (Valencia, 39°37'00"N 0°18'04"O, 25msnm). Las variedades utilizadas fueron 'Hass' del grupo floral A y 'Bacon' del grupo floral B, que se utilizó como polinizador. Ambas variedades estaban injertadas sobre el patrón Duke 7, tenían 4 años de edad y se encontraban en perfectas condiciones sanitarias. El marco de plantación utilizado fue de 6x5 y el riego a goteo.

#### 2. Diseño del experimento

Se realizaron dos experimentos complementarios durante la campaña 2021-2022, el primero con el objetivo de obtener de frutos partenocárpicos y el segundo para mejorar el tamaño final de éstos.

Para ello, se seleccionaron 10 árboles del cv. Hass a los que se les aplicó foliarmente ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) a una concentración de 50 ppm, durante la época de floración, al que se les añadió un agente tensoactivo no iónico (mojante) a una concentración de 0.01%. Los tratamientos se realizaron entre las 9 y las 10 a.m. mediante un tanque a presión de 25-30 atm hasta el goteo. Se iniciaron en estado de botón floral (519 BBCH) y se repitieron, semanalmente, 3 veces más, hasta el final de la antesis (619 BBCH). Otros 10 árboles de características similares se dejaron como control.

Periódicamente se muestrearon flores en preantesis y en antesis y frutos recién cuajados y 20 días más tarde, frutos en crecimiento. Las muestras se congelaron con N líquido y se guardaron a -20°C para su posterior análisis de carbohidratos y de hormonas.

Complementariamente se evaluó el nº de flores por inflorescencia, el peso de las flores, así como el peso y la longitud de la inflorescencia. También se muestrearon periódicamente frutitos recién cuajados (711 BBCH) y frutitos en crecimiento (715 BBCH) a los que se les midió el peso y el diámetro.

Con el fin de mejorar el tamaño final de los frutos se aplicó, por una parte, 3,5,6-TPA a una concentración de 15 ppm y, por otra, 2,4-DP a una concentración de 25 ppm, al inicio de la fase lineal del desarrollo del fruto, utilizando 1 rama diferente de 4 árboles para cada tratamiento incluido su control.

Periódicamente, se evaluó cada 15 días el diámetro del fruto (ecuatorial y longitudinal) y, al final del experimento se pesaron los frutos y midió el grosor de la pulpa, el ancho del lóculo y el porcentaje de materia grasa en cada uno de los tratamientos.

#### 3. Determinaciones analíticas

##### 3.1. Análisis de carbohidratos

Para la identificación de azúcares, se utilizó el protocolo de Woodruff et al. (2015) con algunas modificaciones.

Las muestras en polvo (100 mg de peso seco previamente liofilizadas molidas y pesadas) se mezclaron con 4 ml de etanol 80% (v/v) en tubos de cristal para centrifugado y vortex. También, se añadió una cantidad conocida de manitol (Sigma Chemical CO., Madrid, Spain), un azúcar ausente en la sabia del floema, como estándar interno. Los extractos se incubaron en un baño de agua a 80°C durante 60 min. Después del centrifugado durante 10 min a 3000 rpm a 4°C, el sobrenadante fue pipeteado en otro tubo de centrifugado y el material de la planta sobrante fue reextraído con etanol 4 ml 80 % (v/v), centrifugado y los flotantes agrupados antes de ser evaporados al vacío a 45°C para secarlos. Los residuos fueron redisoluertos en agua 1 ml milliQ sacudiendo el tubo y filtrados mediante una membrana de nylon de 0.45 µm (Waters Millipore, Barcelona, Spain). Los azúcares se analizaron mediante el uso de un HPLC Agilent Technologies conectado a un refractómetro diferencial. Alícuotas de 20 microlitros de los extractos filtrados se inyectaron a una columna HI-Plex Ca (300 x 7.7mm). La columna se mantuvo a 80 °C en un horno termostático y agua pura milliQ fue usada como disolvente en una tasa de flujo de 0.6ml min<sup>-1</sup>. Sacarosa, carbohidratos C6, p.e glucosa y fructosa, y carbohidratos C7, p.e. perseitol y mannoheptulosa, fueron identificados según su tiempo de retención. La cuantificación del azúcar fue desarrollada usando cálculos de pico en área relacionados con las curvas de regresión para concentraciones conocidas de los azúcares. Teniendo en cuenta la recuperación de cada muestra. La efectividad de la extracción fue averiguada por la cantidad de manitol usado como estándar interno. Los resultados son el significado.

### 3.2. Análisis de hormonas vegetales.

Para el análisis del contenido hormonal, alícuotas duplicadas de cada muestra (50 mg de peso seco previamente liofilizadas molidas y pesadas) se extrajeron con metanol 80%: ácido acético 1% (v/v) en presencia de los estándares internos específicos (hormonas marcadas con deuterio para cuantificar las pérdidas de cada hormona inherentes al proceso de extracción [OIChemim Ltd - Olomouc, o Cambridge Isotope Lab - Andover]: [2H5]-IAA y [2H6]-ABA). Estos estándares fueron añadidos para la cuantificación del ácido indolacético (AIA) y ácido abscísico (ABA). En el caso de la transzeatina (tZ) se utilizó esta citoquinina deuterada (D-tZ) como estándar interno.

Para recuperar la fracción ácida donde se localizan los IAA y ABA, los extractos pasaron consecutivamente a través de columnas HLB (Waters Cromatografía, S.A., Barcelona, Spain) en fase reversa, MCX (intercambio catiónico) y WAX (intercambio iónico) (Oasis 30 mg, Waters Cromatografía S.A., Barcelona, España) como se describe en Seo et al. (2011). Para la recuperación de la fracción básica, donde se localizan las citoquininas, las muestras pasaron en primer lugar a través de un cartucho HLB (elución CH<sub>3</sub>CN80: Ácido acético 1%) y a continuación a través de una columna MCX. Las muestras se llevaron a sequedad en rotovapor.

El residuo seco fue disuelto en acetonitrilo al 5% y ácido acético al 1%, y las hormonas fueron separadas usando ultra-cromatografía en fase reversa (UPHL) mediante una columna RP-MS Accucore 2,6 µm (50 mm x 2,1 i.d.: Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EEUU) con un gradiente de acetonitrilo del 5 al 50%, tras lo cual fueron detectadas y analizadas en un espectrómetro masas/masas (Q-exactive Orbitrap detector, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EEUU). Las concentraciones hormonales finales de los extractos fueron determinadas usando las curvas de calibración realizadas previamente. La interpretación de los resultados se realizó mediante los programas Xcalibur 2.2 SP1 build 48 y TraceFinder.



Se han analizado el contenido en giberelinas (GA<sub>20</sub>, GA<sub>1</sub>, GA<sub>8</sub>), ácido indolacético (AIA), y transzeatina (Tz).

### 3.3. Análisis del porcentaje de grasa.

Para la obtención del porcentaje de grasa, primero, se pelaron los aguacates y se cortó la pulpa en rebanadas de unos 5 mm. Una vez preparadas las muestras, estas se pesaron con una balanza analítica. Posteriormente, se introdujeron en un horno de microondas durante 5-6 minutos hasta que su peso se mantuviera constante. Esto fue indicador de que toda el agua presente en el fruto se había evaporado, y, por tanto, conocíamos su peso o materia seca. Mediante la siguiente fórmula, que establece una relación del porcentaje de peso seco con el porcentaje de grasa se obtuvieron dichos valores.

$$\% \text{ Grasa} = 0,98 * (\% \text{MS}) - 10,40$$

### 4. Microscopía óptica de fluorescencia.

Para la observación de las muestras con microscopía óptica de fluorescencia, éstas se fijaron previamente con FPA (Formaldehído 10% -Ácido acético glacial 5% -Etanol 50%) y se guardaron a 4°C hasta su procesado. Las muestras tomadas fueron flores en anthesis a las que se les separaron todos los órganos hasta dejar sólo los ovarios. Éstos se lavaron con agua destilada en tres series de 1 h y se mantuvieron en sulfito sódico al 5%, durante la noche. Al día siguiente, utilizando una nueva solución de la misma concentración de sulfito sódico, los tejidos se reblandecieron durante 1.5 min, a 700 watt, en un microondas. Para observar la viabilidad y/o fecundación de los óvulos, se separó el estigma y el estilo del ovario bajo una lupa binocular, con la ayuda de un bisturí y unas pinzas, y los ovarios se colocaron entre un portaobjetos y un cubreobjetos con unas gotas de azul de anilina al 0.1% en PO<sub>4</sub>K<sub>3</sub> 0.1 N (Linskens y Esser, 1957), evitando la formación de burbujas de aire, y se realizó un *squash*, con el fin de separar el óvulo. Los óvulos que inician su proceso de degeneración sintetizan calosa en el extremo de la chalaza de la nucela, lo que permite su observación en microscopía de fluorescencia.

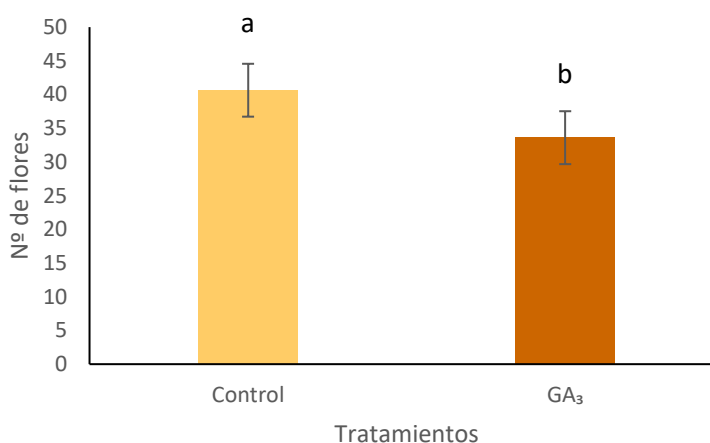
### 5. Análisis estadístico

A los resultados obtenidos se les aplicó el análisis de la varianza con un nivel de confianza (P≤0.05). Para la separación de medias se aplicó el test LSD mediante el programa informático Statgraphics.

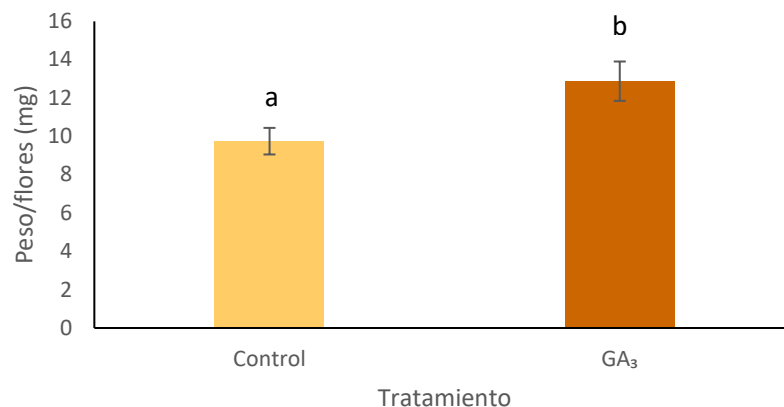
## IV RESULTADOS

### 1. Efecto de la aplicación de GA<sub>3</sub> sobre el desarrollo vegetativo y reproductivo.

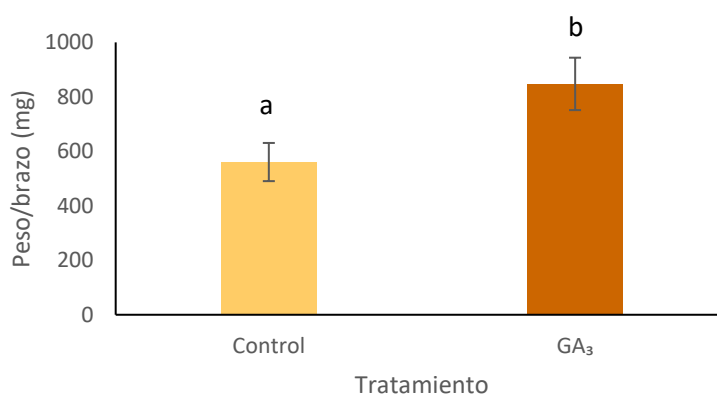
La aplicación exógena de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) repetida tres veces desde el estado de botón floral (519 BBCH) hasta el final de la antesis (619 BBCH), provocó una disminución significativa del número de flores. Mientras las inflorescencias de los árboles control tenían 40,6 flores por brazo, las de los tratados tenían 33,6 flores (Fig. 2). El tratamiento aumentó el peso medio de las flores en un 32% (Fig.3) y el de los brazos de las panículas en un 51 % (Fig.3), y la longitud media de éstas en un 45% (Fig.5). A los diez días de la floración, los frutos recién cuajados de los árboles control superaban significativamente en peso (31,5 mg) a los de los árboles tratados (29,2 mg) (Fig.6), lo que sugiere que el tratamiento desacopló el periodo de polinización efectiva.



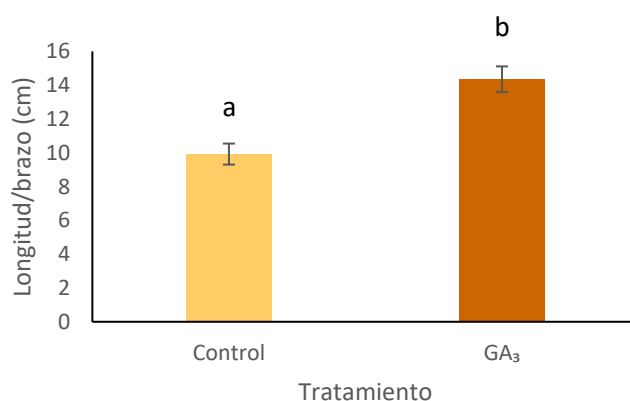
**Figura 2.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) en el número de flores por brazo de una inflorescencia de aguacate 'Hass'. Cada valor es la media de 5 árboles y 5 ramas por árbol. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05)



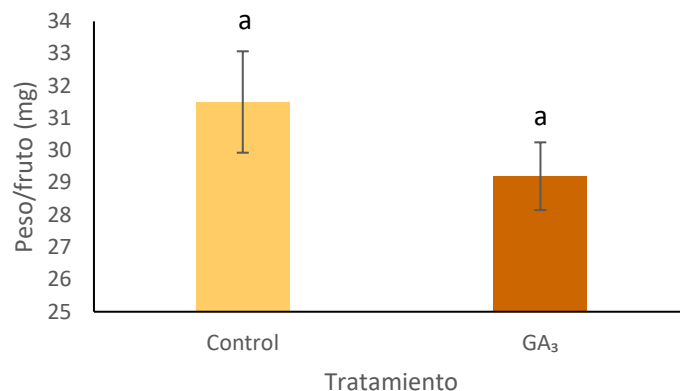
**Figura 3.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) en el peso de las flores del aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de las flores de 5 ramas por árbol y de 5 árboles. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05)



**Figura 4.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) en el peso medio de los brazos de las inflorescencias del aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de los brazos de 5 panículas por árbol y de 5 árboles. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05)

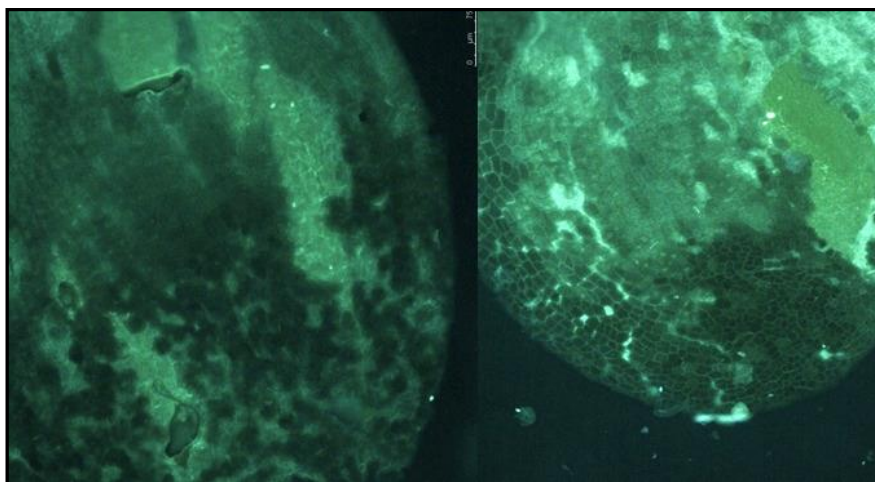


**Figura 5 .** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) en la longitud media de los brazos de las inflorescencias del aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de 5 inflorescencias por árbol y 5 árboles. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05)



**Figura 6.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) en el peso medio de los frutos recién cuajados del aguacate ‘Hass’. Valores correspondientes a los diez días de la antesis. Cada valor es la media de 3 frutos por árbol y tratamiento. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P<0.05)

La observación de los óvulos en microscopía óptica reveló que los procedentes de árboles control apenas presentaban callosa, un carbohidrato que se acumula en tejidos en degeneración y emite fluorescencia cuando se ilumina con una fuente de luz UV, mientras que los tratados mostraban elevada presencia de este carbohidrato (Figura 7).

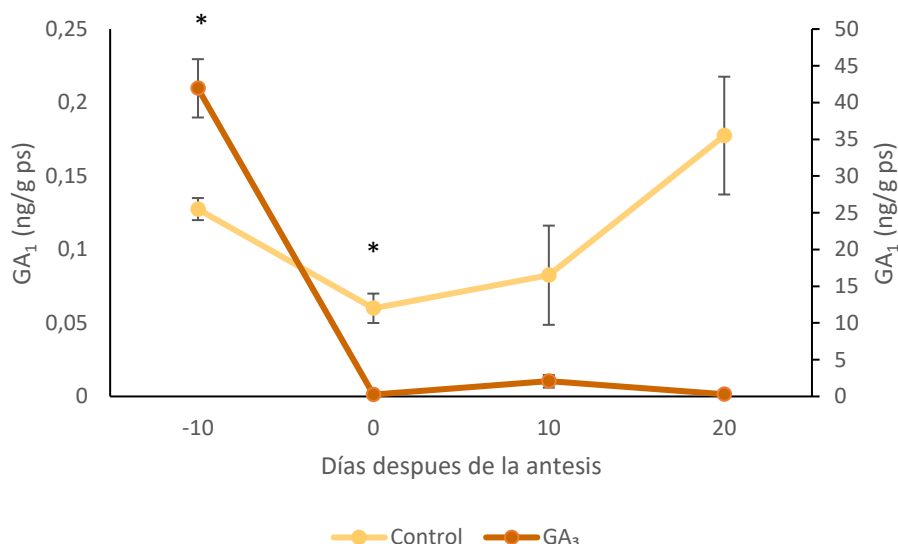


**Figura 7.** Fluorescencia emitida por la presencia de callosa en el óvulo de una flor de un árbol control (izquierda) y tratado 3 veces con GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) (derecha). La mayor fluorescencia emitida por el óvulo tratado indica su estado avanzado de degeneración.

## 2. Efecto de la aplicación de GA<sub>3</sub> en el contenido hormonal de los ovarios.

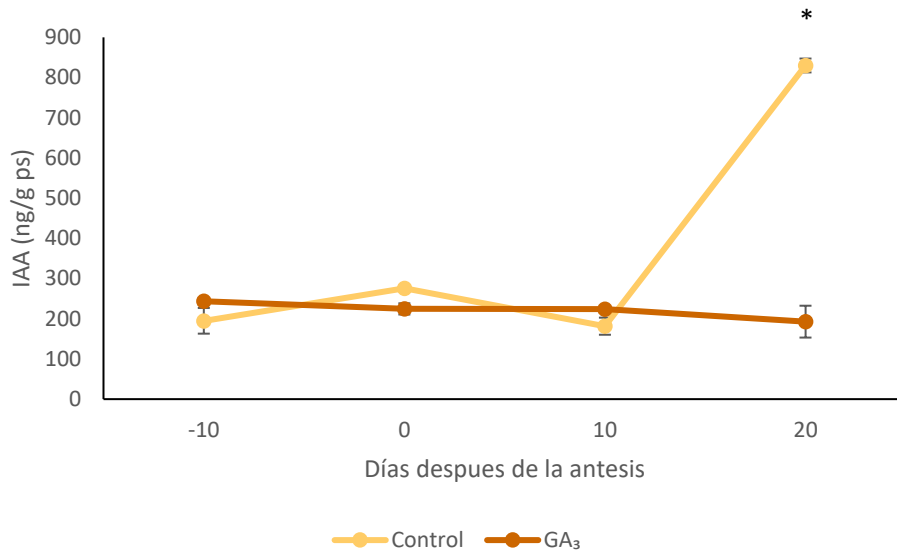
La imposibilidad de separar el ovario del resto de la flor para su análisis hace que las concentraciones hormonales de giberelinas, auxina y citoquininas aquí determinadas lo son, realmente, de la flor, aunque mayoritariamente su localización sea el ovario.

La aplicación de GA<sub>3</sub> provocó cambios en el contenido hormonal de las flores. Así, la concentración de GA<sub>1</sub> en las de los árboles control presentó un valor mínimo en el momento de la antesis (0.06 ng/g ps) que se recuperó hasta triplicarse (0.18 ng/g ps) 20 días después (Fig. 8). En las de los árboles tratados también el valor mínimo, próximo a 0 ng /g ps, se detectó en el momento de la antesis, si bien 10 días antes su concentración era casi el doble que la de los controles (Fig. 8), pero desde dicho estado hasta el final de nuestro experimento, 20 días después de la antesis, su concentración se mantuvo prácticamente nula.



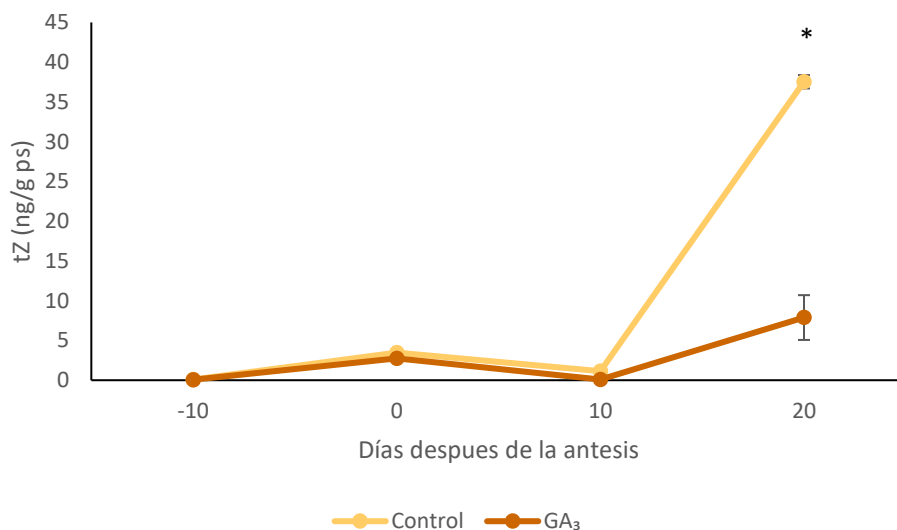
**Figura 8.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el contenido de GA<sub>1</sub> en las flores del aguacate 'Hass'. Cada valor es la media de 4 repeticiones biológicas y 2 réplicas técnicas. Las barras verticales indican el error estándar. \* indican diferencias significativas (P<0.05).

El contenido en AIA (ácido indolacético) no mostró diferencias significativas entre tratamientos hasta 20 días después de la antesis, cuando la concentración de los frutos de los árboles control alcanzó valores 4 veces superiores (800 ng/g ps) a los de los frutos de árboles sin tratar (200 ng/g ps) (Fig. 9). Es de destacar que hasta dicha fecha la concentración en ambos tipos de frutos permaneció casi constante con el tiempo (200 ng/g ps).



**Figura 9.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH), hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el contenido de IAA en las flores del aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de 4 repeticiones biológicas y 2 réplicas técnicas. Las barras verticales indican el error estándar. \* indican diferencias significativas (P<0.05)

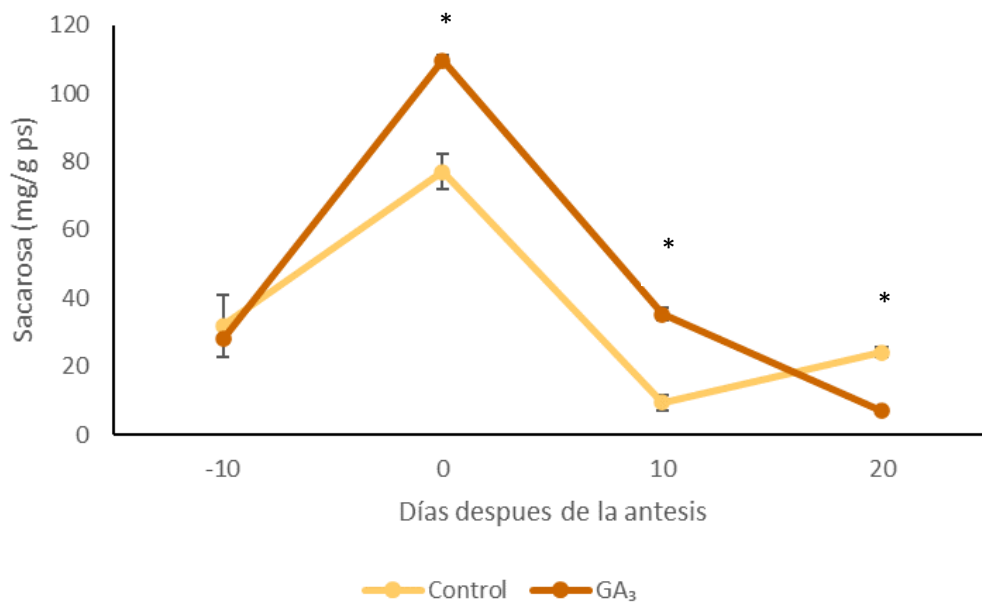
La concentración de tZA mostró una evolución similar a la del AIA, si bien con valores marcadamente más bajos (Fig. 10). También en este caso, la concentración de los frutos de los árboles control mostró un incremento a los 20 días después de la antesis que multiplicó por 40 la de 10 días antes. También los árboles tratados mostraron en dicha fecha un ligero incremento de su concentración que, no obstante, fue casi 5 veces inferior a la de los árboles sin tratar (Fig.10).



**Figura 10.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH), hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el contenido de tZ en las flores del aguacate ‘Hass’. Cada valor es la media de 4 repeticiones biológicas y 2 réplicas técnicas. Las barras verticales indican el error estándar. \* indican diferencias significativas (P<0.05)

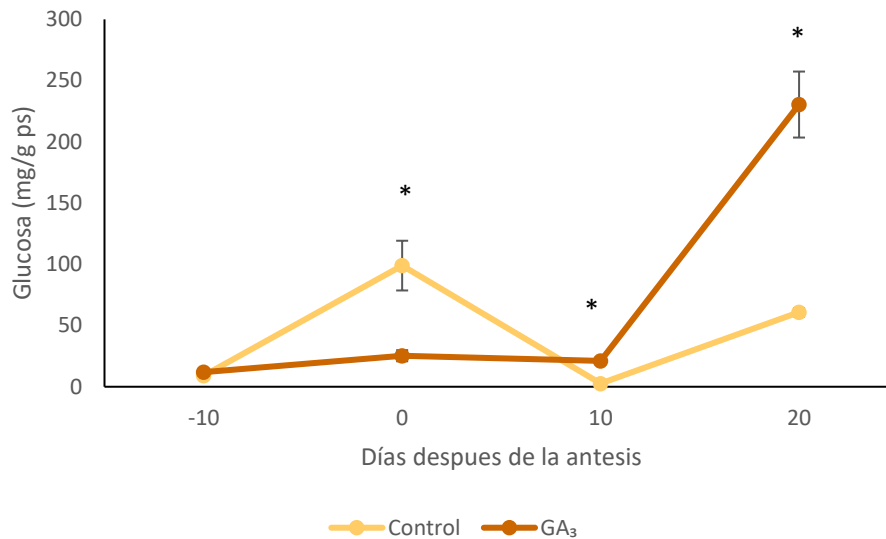
### 3. Efecto de la aplicación de GA<sub>3</sub> sobre el metabolismo de los azúcares

La evolución de la concentración de sacarosa aumentó gradualmente durante la preantesis hasta alcanzar su máximo en antesis, descendiendo bruscamente durante los 10 días siguientes (Fig. 11). La aplicación de GA<sub>3</sub> no alteró esta tendencia, pero sí aumentó significativamente los valores. Así, mientras la concentración de las flores de los árboles control en antesis era de 77 mg/g ps, en los tratados era de 109,7 mg/g ps, manteniéndose la significación estadística 10 días más tarde con concentraciones de 9,3 y 35,3 mg/g de ps, respectivamente (Fig. 11).



**Figura 11.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> a (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el metabolismo de la sacarosa en las flores del aguacate 'Hass. Cada valor es la media de 4 repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar. \* indican diferencias significativas (P<0.05)

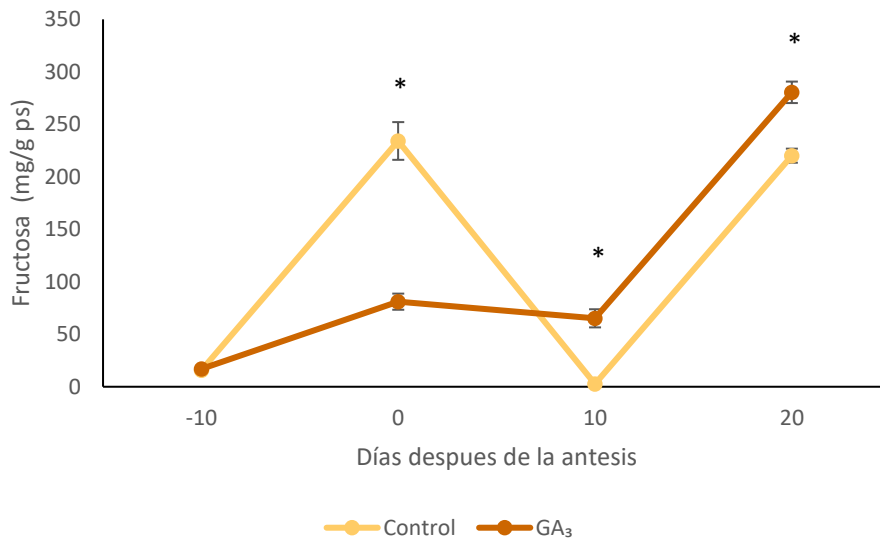
La concentración de glucosa en las flores también presentó un pico en antesis con independencia del tratamiento. Y del mismo modo que para la sacarosa ambos tipos de flores, tratadas y sin tratar, presentarán una concentración máxima en antesis, significativamente mayor en las de los árboles control (98,9 mg/g ps) que en las de los tratados (25,3 mg/g ps), (Fig. 10), alcanzando 10 días más tarde valores de 2,7 y 21,1 mg/g ps, respectivamente. Pero a diferencia de la sacarosa, a partir de esa fecha su concentración aumentó rápidamente a favor de las flores de los árboles tratados que alcanzaron una concentración de 230,4 mg/g ps frente a 60,8 mg/g ps de las de los controles (Fig. 12).



**Figura 12.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el metabolismo de la glucosa en las flores del aguacate 'Hass. Cada valor es la media de 4 repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar. \* indican diferencias significativas (P<0.05)

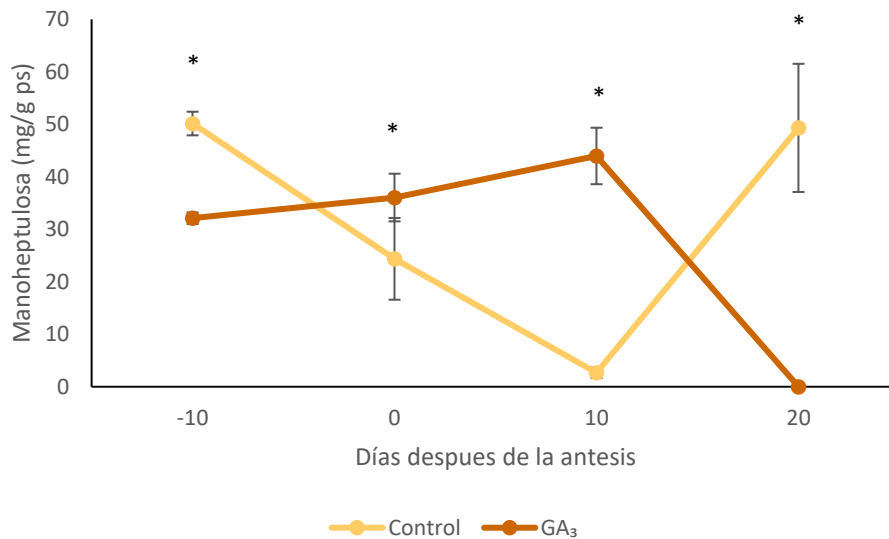
La concentración de fructosa siguió una pauta similar a la glucosa, con un pico en su concentración en antesis, superior en las flores de los árboles control (234,1 mg/g ps) respecto de las de los tratados (81,1 mg/g ps), y un descenso gradual hasta los 10 días después de la antesis, si bien manteniendo valores más altos los árboles tratados (Fig. 13). La evolución posterior mostró un aumento rápido de la concentración con valores más altos en las flores tratadas (280,5 mg/g ps) que en las control (220,1 mg/g ps), como en el caso de la glucosa (Fig. 12). En general, la concentración de fructosa fue superior a la de glucosa, con independencia del tipo de flor analizada, sin tratar y tratada con GA<sub>3</sub>.





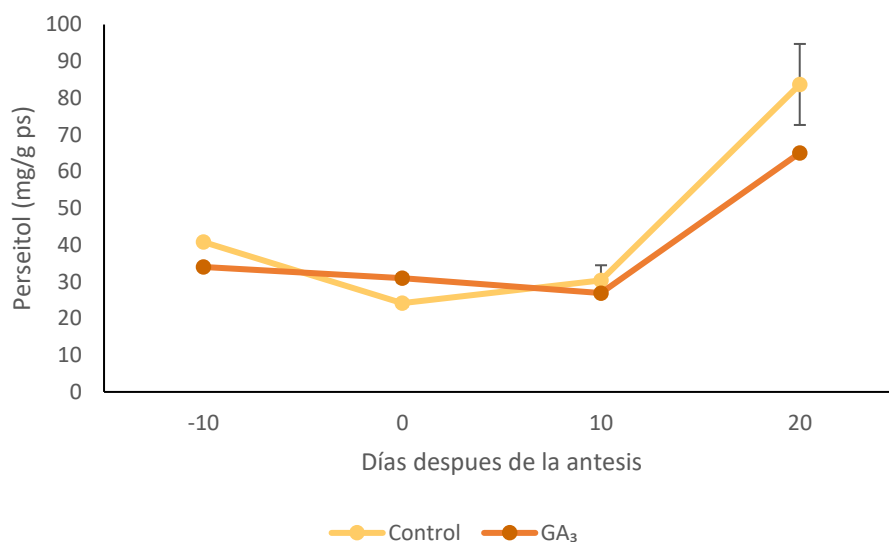
**Figura 13.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el metabolismo de la fructosa en las flores del aguacate 'Hass. Cada valor es la media de 4 repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar. \* indican diferencias significativas (P<0.05)

La manoheptulosa, azúcar privativo del aguacate entre las especies frutícolas leñosas, siguió una evolución absolutamente dispar en las flores de árboles sin tratar y tratados con GA<sub>3</sub>. Así, mientras en los controles disminuyó gradualmente desde 10 días antes de la antesis (50,2 mg/g ps) hasta 10 días postantesis (2,7 mg/g ps), en las de los árboles tratados aumentó ligeramente (32,1 y 44,0 mg/g ps, respectivamente) (Fig. 14). Y a partir de dicha fecha, las flores de los árboles control aumentaron rápidamente su concentración hasta alcanzar 49,3 mg/g ps mientras que las de los árboles tratados la redujeron hasta cero (Fig. 14).



**Figura 14.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el metabolismo de la manohheptulosa en las flores del aguacate 'Hass. Cada valor es la media de 4 repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar. \* indican diferencias significativas (P<0.05)

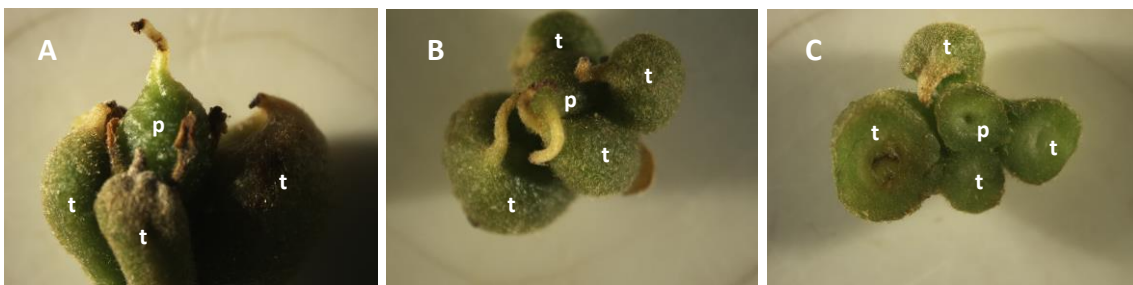
La evolución de la concentración de perseitol fue prácticamente igual en las flores sin tratar y tratadas (Fig. 15). Se mantuvo prácticamente constante entre los 20-40 mg/g ps desde 10 días antes de la antesis hasta 20 día después de ésta, con un incremento posterior que alcanzó valores mayores en las flores de los árboles control (83,7 mg/g ps) que en las de los tratados (65,1 mg/g ps), aunque estas no fueron significativas. (Fig. 15).



**Figura 15.** Efecto de cuatro aplicaciones de GA<sub>3</sub> (50 mg l<sup>-1</sup>) desde el estado de botón floral (estado 519 de la escala BBCH) hasta el final de antesis (619 BBCH) sobre el metabolismo del perseitol en las flores del aguacate 'Hass. Cada valor es la media de 4 repeticiones. Las barras verticales indican el error estándar. En ningún caso existen diferencias significativas.

#### 4. Alteraciones morfológicas derivadas de la aplicación repetida de GA<sub>3</sub>

La aplicación reiterada de GA<sub>3</sub> provocó alteraciones morfológicas en las flores. Las situadas en posición terminal de las inflorescencias desarrollaron extraordinariamente sus tépalos, que adquirieron un aspecto carnososo y de dimensiones semejantes al pistilo en los primeros estados de desarrollo (Fig. 16).

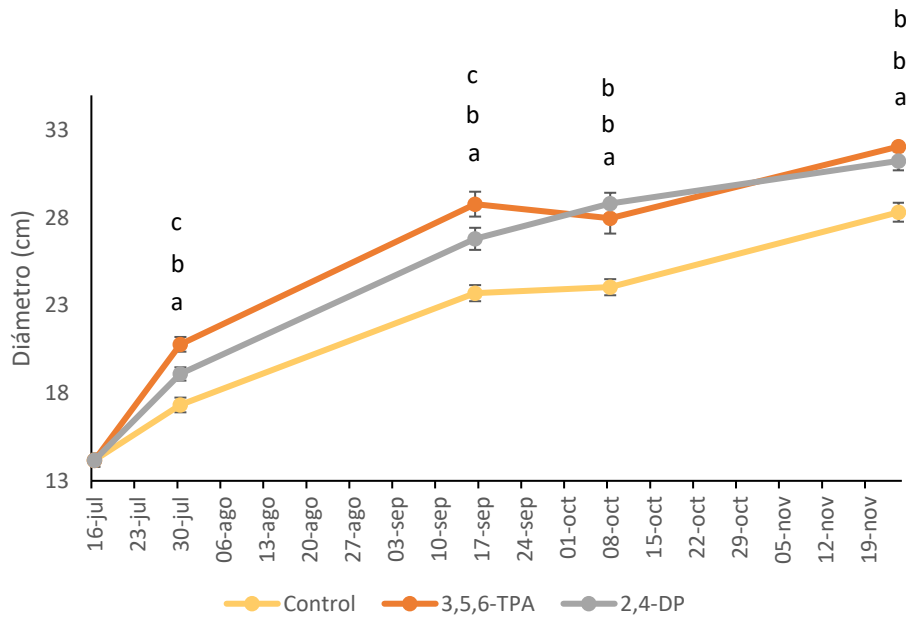


**Figura 16.** Vista lateral (A), frontal (B) y corte transversal (C) de la flor mostrando el pistilo (p) y los tépalos (t) engrosados.

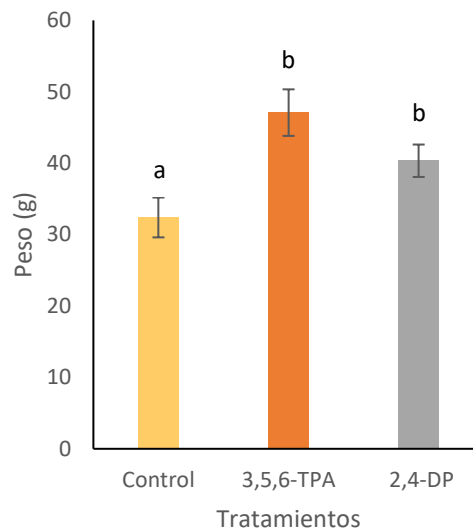
Este desarrollo anormal de los tépalos se vio acompañado de una reducción del tamaño del ovario de modo que su peso en dichas flores alcanzó los 160 mg, mientras que en las flores que no vieron hipertrofiados sus tépalos fue de 250 mg.

#### 5. El aumento del tamaño de los *paltines*. Efecto de las auxinas de síntesis.

La aplicación exógena de las auxinas de síntesis 3,5,6-TPA (ácido 3,5,6-tricloro-2-piridiloxiacético), y 2,4-DP (éster etilhexil del ácido 2,4-diclorofenoxipropiónico) a una concentración de 15 y 25 mg l<sup>-1</sup>, respectivamente, al inicio de la fase lineal de crecimiento del fruto (*paltines*) estimuló su crecimiento. Así, a los quince días del tratamiento (30 de julio) el diámetro de los frutos tratados con 3,5,6-TPA (20,7 mm) o 2,4-DP (19,1 mm) ya era significativamente mayor que el de los frutos control (17,3 mm), y en el momento de la recolección de 32,1, 31,3 y 28,3 mm, respectivamente (Fig.17). Las diferencias en peso alcanzaron, lógicamente, la misma separación entre medias, con 47,0 g en los frutos tratados con 3,5,6-TPA, 40,3 g en los tratados con 2,4-DP, y 32,4 g en los controles sin tratar (Fig.18).

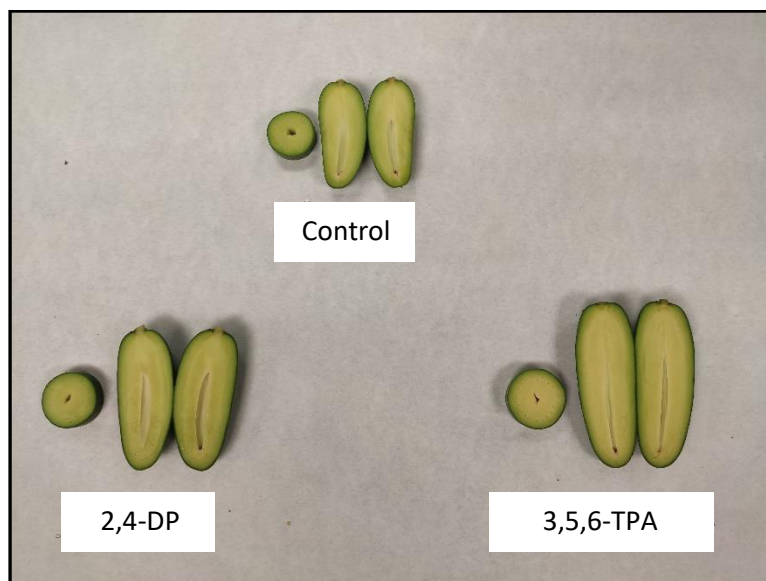


**Figura 17.** Efecto de la aplicación de  $15 \text{ mg l}^{-1}$  de 3,5,6-TPA y  $25 \text{ mg l}^{-1}$  de 2,4-DP al inicio de la fase lineal del desarrollo del fruto en el diámetro final de los paltines. Cada valor es la media de 10 frutos. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ )



**Figura 18.** Efecto de la aplicación de  $15 \text{ mg l}^{-1}$  de 3,5,6-TPA y  $25 \text{ mg l}^{-1}$  de 2,4-DP al inicio de la fase lineal del desarrollo del fruto en el peso final de los paltines. Cada valor es la media de 10 frutos para el 24 de noviembre. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ )

Los frutos obtenidos con los tratamientos efectuados mantienen su forma alargada, con notable diferencia en su aspecto comercial (tamaño) en favor de los tratados con auxinas de síntesis (Fig. 19).



**Figura 19.** Aspecto de un corte longitudinal y transversal de frutos de aguacate aspermos del cv. 'Hass' por acción de tratamientos repetidos con  $GA_3$  ( $25 \text{ mg l}^{-1}$ ) durante la pre- y post-antesis y tratados con 3,5,6-TPA ( $15 \text{ mg l}^{-1}$ ) o 2,4-DP ( $25 \text{ mg l}^{-1}$ ) al inicio de la fase lineal de crecimiento.

El grosor de la pulpa de los frutos tratados con 3,5,6-TPA y 2,4-DP no presenta diferencia significativa, pero sí con los controles sin tratar con auxinas (Tabla 1). El hueco del lóculo dejado por la ausencia de semilla no difirió entre tratamientos, si bien en los frutos tratados con 3,5,6-TPA fue ligeramente inferior (Tabla 1). El peso, tanto fresco como seco, aumentó por efecto del tratamiento con las auxinas (Tabla 1, Figs. 17 y 18). Todos estos parámetros fueron significativamente inferiores a los de los frutos no tratados con  $GA_3$ , esto es, los frutos con semilla de aguacate 'Hass' comercializados (Tabla 1).

Finalmente, el contenido en grasa, que determina la calidad comercial del aguacate fue ligeramente inferior en los *paltines* respecto de los frutos con semilla, si bien en los *paltines* tratados con 3,5,6-TPA (10,6% de grasa) la diferencia no alcanzó la significación estadística respecto de los frutos con semilla (11,8 % de grasa) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Efecto de la aplicación de  $15 \text{ mg l}^{-1}$  de 3,5,6-TPA y  $25 \text{ mg l}^{-1}$  de 2,4-DP al inicio del desarrollo del fruto sobre las características físicas y contenido en grasa de los *paltines* y frutos con semilla del aguacate 'Hass'

	Control con semilla	Frutos tratados con $GA_3$ ( <i>paltines</i> )		
		Control sin semilla	2,4-DP	3,5,6-TPA
Pulpa (mm)	16,0	11,3	15,1	16,1
Ø lóculo (mm)	25,0	5,2	5,1	2,7
P. fresco (g)	150,8	32,4	47,1	40,3
P. seco (%)	22,9	20,1	17,2	21,8
% grasa	11,8	9,3	9,4	10,6

## V DISCUSIÓN

La *partenocarpia* es la capacidad de un ovario para convertirse en fruto sin desarrollo de su ovulo(s), bien porque no haya(n) sido fecundado(s), bien por su aborto precoz. El primer caso se denomina propiamente partenocarpia y es consecuencia de la esterilidad gamética, el segundo es inducido por agentes endógenos o exógenos y recibe el nombre de *estenospermocarpia*. Y ambas pueden ser provocadas a voluntad.

La *partenocarpia autónoma* es consecuencia de la esterilidad del grano de polen o del propio óvulo, o de la incompatibilidad estilar sobre el desarrollo del tubo polínico, sin la presencia de estímulo alguno. Pero la polinización, la germinación del grano de polen y el desarrollo del tubo polínico pueden provocar estímulos capaces de iniciar el desarrollo del fruto sin que en ningún caso tenga lugar la fecundación y, por consiguiente, sin la formación de semillas. En estos casos el proceso recibe el nombre de *partenocarpia estimulada*. Cuando la acción de agentes externos, generalmente climáticos, provocan el aborto del embrión, esto es, transcurrido un periodo tras la fecundación, el fenómeno recibe el nombre de *estenospermocarpia*. Este último fenómeno también puede provocarse mediante la aplicación de sustancias tales como el ácido naftalenacético, lo que se ha demostrado en Rosáceas (Luckwill, 1953; Reig et al., 2014), y la hidracida maleica, demostrado en los cítricos (Mesejo et al., 2014).

En Fruticultura, la diferencia entre el número de días de longevidad del óvulo y el que tarda el tubo polínico en alcanzar el saco embrionario recibe el nombre de *periodo de polinización efectiva*. Y éste puede desacoplarse provocando el desarrollo precoz del óvulo. Existen evidencias de que la aplicación de GA<sub>3</sub> antes de la antesis promueve la división celular en el ovario acelerando el crecimiento del óvulo y desacoplando el periodo de polinización efectiva, originando de este modo la partenocarpia. Ello se ha demostrado en cítricos (Mesejo et al., 2016) y en el níspero japonés (Mesejo et al., 2010).

En el aguacate, es frecuente la presencia de frutos aspermos de pequeño tamaño que, en los países productores, reciben el nombre de *paltín* (diminutivo de *palto*, como se denomina el aguacate en dichos países). El origen de estos frutos no ha sido estudiado en profundidad, pero dado que la *dicogamia* es característica de esta especie no es improbable que sea trate de una partenocarpia estimulada.

Estos frutos, no obstante, pueden también promoverse aprovechando el efecto del GA<sub>3</sub> sobre el periodo de polinización efectiva. Y así se ha conseguido en nuestro caso con la aplicación repetida desde la preantesis de esta hormona vegetal, como se demuestra con el análisis histológico de la deposición de callosa en el óvulo. Las flores tratadas en épocas precoces de su desarrollo fueron incapaces de ser fecundadas, y desarrollaron, por tanto, frutos partenocárpicos. Una demostración indirecta de ello es el mayor peso de las flores tratadas en el momento de la antesis, como también ocurre en los cítricos (Mesejo et al., 2016) y en el níspero japonés, (Mesejo et al., 2010). Ello que concuerda, por una parte, con su mayor contenido en sacarosa, y, por otra, con su menor contenido en glucosa y fructosa en dicho estado fenológico. La aplicación de GA<sub>3</sub> aumentó la capacidad sumidero del fruto, de ahí su

mayor contenido en sacarosa, y la división celular, de ahí la menor concentración en azúcares de consumo, glucosa y fructosa.

En este aspecto es interesante estudiar la evolución del contenido hormonal en los ovarios de las flores tratadas. Así, en el momento de la antesis su contenido en GA<sub>1</sub> e indolacético era significativamente menor que el de las flores sin tratar, lo que indica la ausencia de fecundación, esto es, del desarrollo inicial del embrión; pero 10 días antes la concentración de ambas hormonas era mayor en los ovarios de las flores tratadas, sobre todo la de GA<sub>1</sub>, lo que es lógico puesto que fue una giberelina (GA<sub>3</sub>) lo que se aplicó. Este contenido es el que induce la división celular, y, por tanto, el desacople del periodo de polinización efectiva. El mecanismo del GA<sub>3</sub> induciendo partenocarpia ya ha sido estudiado en la uva (Kimura et al., 1996), cereza (Stösser y Anvari, 1982), níspero japonés (Mesejo et al., 2010) y mandarina clementina (Mesejo et al., 2008), pero se desconoce su acción en el aguacate. En las especies citadas, la respuesta aumenta con el número de aplicaciones y depende de la época de aplicación, es decir, del estado de desarrollo de la flor, siendo los estados preantesis los más sensibles. De hecho, en nuestro experimento las flores más retrasadas de las panículas fueron las que dieron mayor número de frutos partenocarpicos (datos no presentados).

Por otra parte, tasas de crecimiento reducidas durante las primeras fases del cuajado comportan la abscisión del ovario en desarrollo (Mehouachi et al., 1995; Gomez-Cadenas et al., 2000), pero no ocurrió así en nuestro experimento. Gómez-Cadenas et al. (2000) sugirieron que la GA<sub>1</sub> debe estar envuelta en la promoción del crecimiento durante la transición del ovario a fruto en desarrollo (cuajado), evitando así su abscisión. Por tanto, la aplicación de GA<sub>3</sub> debió sustituir la síntesis endógena de GA<sub>1</sub> (ver contenidos en preantesis en la Fig. 6), y son necesarios varios tratamientos para tener una respuesta eficaz (Mesejo et al., 2010). Este estímulo de la síntesis endógena de giberelinas provocado por la aplicación de GA<sub>3</sub> se ha demostrado en los cítricos en los que modifica su 13-hidroxilación aumentando la expresión de los genes *GA20ox2* y *GA3ox2* (Mesejo et al., 2016). La expresión de estos genes se ha relacionado también con la división celular (Fagoaga et al., 2007), lo que se ratificó al comprobar el incremento en la expresión del gen *CYCA1.1* (Mesejo et al., 2016).

El reducido tamaño final de los frutos procedentes de flores tratadas repetidamente con GA<sub>3</sub> puede explicarse por su bajo contenido en auxina desde el inicio de la fase lineal del crecimiento del fruto (ver Fig. 7). La acción del ácido indol-3-acético es a través de un incremento de la expansión celular regulada por su síntesis en las semillas (Rayle y Cleland, 1992). Esta hormona vegetal es responsable de la relajación de la pared celular, que, a su vez, reduce la presión de turgencia (Cosgrove, 2005), lo que aumenta el gradiente de potencial hídrico entre el exterior y el interior de la célula y provoca la absorción de agua y solutos (Hackett y Thimann, 1952). El papel de la auxina puede simularse con la aplicación de auxinas de síntesis, ya que provocan el mismo efecto, esto es, reducen la presión de turgencia celular y, con ello, su potencial hídrico, facilitando la entrada de agua y aumentando así el tamaño del fruto. Este efecto sobre el de potencial hídrico celular de la auxina 3,5,6-TPA ha sido demostrado en el níspero japonés (Reig et al., 2016).

Dado que la aplicación de GA<sub>3</sub> en el estado de preantesis dio lugar a frutos sin semillas (*paltines*) y, en consecuencia, su producción de auxina no se incrementó al inicio de la elongación celular (ver Fig. 7), no es extraño que su tamaño sea reducido. Pero ello no impide, de acuerdo con lo

dicho, que pueda ser mejorado con la aplicación de auxinas de síntesis. Y, en efecto, tanto el 2,4 DP como el 3,5,6-TPA cuando se aplicaron al inicio de la fase final del desarrollo del fruto aumentaron su tamaño final, de un modo similar a como ocurre en cítricos (Agustí et al., 1994), cerezo (Agustí et al., 1997; Stern et al., 2007), ciruelo (Agustí et al., 1997; Stern et al., 2007), albaricoque (Agustí et al.; Forlani et al., 2010) melocotón (Agustí et al., 1999), caqui (Agustí et al., 2004), kiwi (Bregoli et al., 2006) y litchi (Drinnan y Diczbalis, 2010).

Es de destacar que los *paltines* conseguidos mediante partenocarpia inducida por el GA<sub>3</sub> no mostraron diferencias importantes con los frutos con semilla, salvo su menor tamaño. El contenido en grasa, si bien ligeramente inferior, tampoco fue alterado de forma notable.

Un aspecto de interés lo constituye la deformación de las flores provocada por la aplicación repetida de GA<sub>3</sub>. La hipertrofia de los tépalos no tiene explicación, y no ha sido registrada hasta la fecha, y el hecho de que la mayor parte de estas flores aparecieran en posición terminal de la panícula tampoco ayuda a su interpretación. Los frutos originados a partir de estas flores se desprendieron a lo largo de su desarrollo.



## VI CONCLUSIONES

1. La aplicación repetida de GA<sub>3</sub> desde la preantesis hasta la antesis induce la partenocarpia desacoplando el periodo de polinización efectiva.
2. La aplicación de 2,4-DP o 3,5,6-TPA durante el desarrollo del fruto partenocárpico aumenta su tamaño final sin alterar apenas sus características.

## VII BIBLOGRAFÍA

HACKETT, D., THIMANN, K., 1952. The nature of the auxin-induced water uptake by potato tissues. *Am. J. Bot.* 39, 553–560.

LUCKWILL, L.C., 1953. Studies on fruit development in relation to plant hormones. II. The effect of naphthaleneacetic acid applied to apple leaves. *J. Hortic. Sci.* 28, 35–40.

PRATT, C. y SHAULIS, N. 1961. Gibberellin-induced parthenocarpy in grapes. *Proceeding of the American Society for Hortic. Sci.*, 77, 322-330.

HOMAN, D.H. 1964. Auxin transport in the physiology of fruit development. *Plant Physiol.* 39, 320-336.

IWAHORI, S. 1978. Use of growth regulators in the control of cropping of mandarin varieties. *Proc. Int. Soc. Citriculture*: 263-270.

GARCÍA-MARTÍNEZ, J.L. Y CARBONELL, J. 1980. Fruit-set of Unpollinated ovaries of *Pisum sativum* L. Influence of plant growth regulators. *Planta*, 147, 451-456.

SEDGLEY, M. 1980. Anatomical investigation of abscised avocado flowers and fruitlets. *Annals of Botany* 46, 771-777.

STEPHENSON, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual review of ecology and systematics* 12, 253-259.

WHEATON, T.A. 1981. Fruit thinning of Florida mandarins using plant growth regulators. *Proc. Int. Soc. Citriculture* 1, 263 268.

STÖSSER, R., ANVARI, S.F., 1982. On the senescence of ovules in cherries. *Sci. Hort.* 16, 29–30.

RAZETO, B. y LONGUEIRA, J. 1983. Introducción de partenocarpia en palto mediante aspersiones de ácido giberélico en la floración. *Simiente*, Vol. 53, Nº 3-4: 139-143.

COHEN, A. 1984. Citrus fruit enlargement by means of summer girdling. *J. Hortic. Sci.*, 59: 119-125.

GAFNI, E. 1984. Effect of extreme temperature regimes and different pollenizers on the fertilization and fruit set processes in avocado. (In Hebrew). MS Thesis, Faculty of Agriculture, Hebrew Univ. of Jerusalem, Rehovot, Israel.

SEDGLEY, M. 1987. Flowering, pollination and fruit-set of avocado. *South African Avocado Growers Association Yearbook* 10, 42-43.

DING, C.K. Y ZHANG, H. Z. 1988. Effects of hormones on growth and development of loquat fruits. *Acta Hortic. Sinica*, 15:148-153.

GALLASCH, P.T. 1988. Chemical thinning of heavy crops of mandarins to increase fruit size. *Proc. 6th Int. Citrus Cong.* 1:395 405.

- 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.
- CUTTING, J.G.M. y BOWER, J.P. 1990. Relationship between auxin transport and calcium allocation in vegetative and reproductive flushes in avocado. *Acta Hort.*, 275, 469-475.
- BALDINI, E. 1992. *Arboricultura general*, 379 p. Ediciones Mundi-prensa Madrid, España. 379 pag.
- CALABRESE, F. 1992. *El aguacate*. Editorial Mundi-Prensa.
- RAYLE, D., CLELAND, R., 1992. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiol.* 99, 1271–1274.
- TALON, M., ZACARIAS, L. y PRIMO-MILLO, E. 1992. Gibberellins and parthenocarpic ability in developing ovaries of seedless mandarins. *Plant Physiol.*, 99: 1575-1581.
- ZARAGOZA, S., TENOR, I., ALONSO, E., PRIMO MILLO, E., AGUSTÍ, M. 1992. Treatments to increase the final fruit size on Satsuma Clausellina. *Proc. Int. Soc. Citriculture* 2, 725 728.
- WHILEY, A.W. y SCHAFFER, B. 1993. <sup>14</sup>C-photosynthate partitioning in avocado trees as influenced by shoot development. *Hort. Sci.* 28, 850-852.
- AGUSTÍ, M., ALMELA, V., AZNAR, M., EL-OTMANI, M., PONS, J., 1994. Satsuma mandarin fruit size increased by 2,4-DP. *Hort. Sci.* 29, 279–281.
- FINAZZO, S.F., DAVENPORT, T.L. AND SCHAFFER, B. 1994. Partitioning of photoassimilates in avocado (*Persea americana* Mill) during flowering and fruit-set. *Tree Physiology* 14, 153-164.
- AGUSTÍ, M., ALMELA, V., AZNAR, JUAN, M., V. ERES, V. 1995a. Desarrollo y tamaño final del fruto en los agrinos. *Generalitat Valenciana, Serie Divulgació Técnica* n. 32.
- AGUSTÍ, M., EL OTMANI, M., AZNAR, M., JUAN, M., ALMELA, V. 1995b. Effect of 3,5,6 trichloro 2 pyridyloxyacetic acid on clementine early fruitlet development and on fruit size at maturity. *J. Hort. Sci.* 70:855 962.
- MEHOACHI, J., SERNA, D., ZARAGOZA, S., AGUSTÍ, M., TALÓN, M., PRIMO-MILLO, E. 1995. Defoliation in crease fruit abscission and reduce carbohydrate levels in developing fruits and Woody disuess of citrus unshiu. *Plant Sci.* 107, 189-197.
- AGUSTÍ, M., ALMELA, V., ZARAGOZA, S., PRIMO MILLO, E., EL OTMANI, M. 1996. Recent findings on the mechanism of action of the synthetic auxins used to improve fruit size of citrus. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 2:922-928.
- ALABADI, D.; AGUERO, M. S.; PEREZ-AMADOR, M.A. Y CARBONELL, J. 1996. Arginase, Arginine Decarboxylase, Ornithine Decarboxylase, and Polyamines in tomato ovaries. Changes in Unpollinated ovaries and parthenocarpic fruits induced by auxin or gibberellin. *Plant Physiol.* 112, 1237-1244.

- KIMURA, P.H., OKAMOTO, G., HIRANO, K., 1996. Effects of gibberellic acid and strepto-mycin on pollen germination and ovule and seed development in Muscat Bailey A. *Am. J. Enol. Vitic.* 47, 152–156.
- SALAZAR-GARCÍA, S. y LOVATT, C.J. 1997. Use of gibberellic acid to manipulate flowering in the 'Hass' avocado. *Proceedings from Conference '97: Searching for Quality. Joint Meeting of the Australian Avocado Grower's Federation*: 106-111.
- SALAZAR-GARCÍA, S., LORD, E.M. y LOVATT C.J. 1998. Inflorescence Development of the 'Hass' Avocado: Commitment to Flowering. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 124: 478–482.
- AGUSTÍ, M., JUAN, M., ALMELA, V., ANDREU, I., SPERONI, C., 1997. Estímulo del desarrollo de los frutos de hueso Sèrie Divulgació Tècnica n. 38. *Generalitat Valenciana, Valencia, Spain*.
- AGUSTÍ, M., ALMELA, V., ANDREU, I., JUAN, M., ZACARÍAS, L., 1999. Synthetic auxin 3,5,6-TPA promotes fruit development and climacteric in *Prunus persica* L. Batsch. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 74, 556–560.
- LAHAV, E. y ZAMET, D. 1999. Flowers, fruitlet and fruit drop in avocado trees. *Revista Chapingo Serie Horticultura Núm. Especial V*, 95-100.
- OZGA, J.A. Y REINECKE, D.M. 1999. Interaction of 4-chloroindol-3-acetic acid and gibberellins in early pea fruit development. *Plant growth Regul.* 27, 33-38.
- AGUSTÍ, M. (2000). *Citricultura*. Editorial Mundi-Prensa, Madrid, España. 416 pp.
- AGUSTÍ, M. (2000). *Citricultura*. Editorial Mundi-Prensa, Madrid, España. 416 pp.
- GÓMEZ-CADENAS, A., MEHOUACHI, J., TADEO, F.R., PRIMO-MILLO, E., TALON, M., 2000. Hormonal regulation of fruitlet abscission induced by carbohydrate shortage in Citrus, *Planta* 210, 636–643, <http://dx.doi.org/10.1007/s004250050054>.
- JEAN, D. AND LAPOINTE, L. 2001. Limited carbohydrate availability as a potential cause of fruit abortion in *Rubus chamaemorus*. *Physiologia Plantarum* 112, 379-387.
- DUCHENE, E., JAEGLI, N., SALBER, R., GAUDILLERE, J.P. 2003. Effects of ripening conditions on the following season's growth and yield components for pinot noir and Gewurztraminer grapevines (*Vitis vinífera* L.) in a controlled environment. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 37, 39-49.
- AGUSTÍ, M., JUAN, M., MESEJO, C., MARTÍNEZ-FUENTES, A., ALMELA, V., 2004. Persimmon fruit size and climacteric encouraged by 3,5,6-trichloro-2-pyridyloxiacetic acid. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 79, 171–174.
- DAVIES, P.J.(ED) .2004. *Plant hormones: Biosynthesis, signal transduction, action!*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands.
- COSGROVE, D.J., 2005. Growth of the plant cell wall. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6, 850–861.
- BREGOLI, A.M., FABBRONI, C., RAIMONDI, V., COSTA, G., 2006. Improving colour and size of apricot fruit by means of exogenous auxin application. *Acta Hortic.* 862, 365–372.

LOVATT, C.J. 2006. Alternate bearing of 'Hass' avocado. California Avocado Society 2010 Yearbook 93, 125-140.

TAIZ, L. Y ZEGER, E. 2006. Fisiología vegetal. Colección Ciencias Experimentales. Núm 10. Volumen II. Capítulo 20. Publicacions de la Universitat Jaume I. Castelló de la Plana, España.

DIXON J. 2007. Shoot growth of 'Hass' avocado trees in 'on' and 'off' flowering years in the western bay of plenty. En: Annual Research Report of New Zealand Avocado Growers Association. New Zealand. pp. 41-48

FAGOAGA, C., TADEO, F.R. IGLESIAS, D.J., HUERTA, L., LLISO, I., VIDAL, A.M. et al., 2007. Engineering of gibberellin levels in citrus by sense and antisense overexpression of a GA 20-oxidase gene modifies plant architecture, J. Exp. Bot. 58, 1407–1420, <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erm004>.

STERN, R.A., FLAISHMAN, M., APPLEBAUM, S., BEN-ARIE, R., 2007A. Effect of synthetic auxins on fruit development of 'Bing' cherry (*Prunus avium* L.). Sci. Hortic. 114, 275–280.

STERN, R.A., FLAISHMAN, M., BEN-ARIE, R., 2007B. Effect of synthetic auxins on fruit size of five cultivars of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.). Sci. Hortic. 112, 304–309.

WHILEY, A.W., SCHAFFER, B. Y WOLSTENHOLME, B.N. 2007. El Palto. Botánica, producción y usos. Ediciones Universitarias de Valparaíso. Chile.

ZHANG, C.; TANABE, K.; TANI, H.; ZHAJIMA, H.; MORI, M. Y SAKUNO, E. 2007. Biologically active gibberellins and Abscisic acid in fruit of two late-maturing Japanese pear cultivars with contrasting fruit size. Hort. Sci. 132(4):452-458.

MESEJO, C., MARTINEZ-FUESTES, A., REIG, C., AGUSTÍ, M., 2008. Gibberellic acid impairs fertilization in Clementine mandarin under cross-pollination conditions. Plant Science 175, 267-271.

AGUSTÍ, M. (2010). Fruticultura. Editorial Mundi-Prensa. 507 pp

DRINNAN, J., DICZBALIS, Y., 2010. The effect of foliar sprays of the synthetic auxin 3,5,6-TPA, on fruit drop, fruit size and seed development in three Lychee (*Litchi chinensis*) cultivars Tai So, Fay Zee Sui and Kwai Mai Pink. Acta Hortic. 863, 335–344.

MESEJO, C., REIG, C., MARTINEZ-FUENTES, A., AGUSTÍ, M., 2010. Parthenocarpic fruit production in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) by using gibberellic acid. Sci. Hortic. 126, 37–41.

MESEJO, C., MUÑOZ-FAMBUENA, N., REIG, C., MARTINEZ-FUENTES, A., AGUSTÍ, M., 2014. Cell division interference in newly fertilized ovules induces stenospermocarpy in cross-pollinated citrus fruit. Plant Sci. 225, 86–94

ZIV, DAFNA, et al. 2014. "Expression profiling of FLOWERING LOCUS T-Like gene in alternate bearing 'Hass' avocado trees suggests a role for PaFT in avocado flower induction." Plos one 9.10, e110613

MESEJO, C., YUSTE, R., REIG, C., MARTINEZ-FUENTES, A., IGLESIAS, D., MUÑOZ-FAMBUENA, N., BERMEJO, A., GERMANA, M<sup>a</sup>., PRIMO-MILLO, E., AGUSTÍ, M., 2016. Gibberellin reactivates

and maintains ovary-wall cell division causing fruit set in parthenocarpic Citrus species. *Plant Sci.* 247, 13–24.

REIG, C., MARTÍNEZ-FUENTES, A., MESEJO, C., RODRIGO, M.J., ZACARÍAS, L., AGUSTÍ, M., 2016a. Loquat fruit lacks a ripening-associated autocatalytic rise in ethylene production. *J. Plant Growth Regul.* 35, 232–244.

REIG, C., MESEJO, C., MARTINEZ-FUENTES, A., AGUSTÍ, M., 2016b. Synthetic auxin 3,5,6-TPA increases fruit size of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) by reducing cell turgor pressure. *Sci. Hortic.* 210, 213-219.