



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

EFEECTO DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO Y  
RAYADO SOBRE LA PRODUCCIÓN DEL AGUACATE

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Ingeniería Agronómica

AUTOR/A: Chaveli López, Elena

Tutor/a: Reig Valor, Carmina

Cotutor/a: Agustí Fonfría, Manuel

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGRONÓMICA Y DEL MEDIO  
NATURAL

MÁSTER UNIVERSITARIO EN INGENIERÍA AGRONÓMICA



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO Y RAYADO  
SOBRE LA PRODUCCIÓN DEL AGUACATE**

**TRABAJO FINAL DE MÁSTER**

**Curso académico 2022/2023**

Autor

**Elena Chaveli López**

Tutores

**Carmina Reig Valor  
Manuel Agustí Fonfría**

**Valencia, septiembre de 2023**



## **TÍTULO: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO Y RAYADO SOBRE LA PRODUCCIÓN DEL AGUACATE**

### **RESUMEN:**

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es una especie de origen americano de clima tropical. En los últimos años ha adquirido gran importancia en España, debido a un aumento notable de su demanda.

En condiciones favorables, el aguacate es capaz de producir alrededor de un millón de flores, de las que apenas el 0,001% consiguen cuajar y llegar a la fase de maduración. La razón más importante de ello es su dicogamia y el corto periodo de antesis de sus flores, lo que obliga a que la fecundación se lleve a cabo entre variedades de expresión sexual complementaria y en poco menos de 12 h. A pesar de ello, en general, un árbol de aguacate cuaja más frutos de los que es capaz de soportar bajo el punto de vista nutricional, provocándose en los periodos de crecimiento exponencial y lineal del fruto dos caídas fisiológicas que restringen marcadamente el número de frutos que alcanzan la madurez.

Nuestra hipótesis de trabajo es que la baja productividad que conlleva la abscisión de frutos puede deberse a una fuerte competencia por carbohidratos entre flores, frutos y desarrollo vegetativo.

Para contrastar esta hipótesis, la reducción de la floración puede ser una técnica útil, ya que con ello se reduciría la competencia entre órganos en desarrollo. La aplicación de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) durante el periodo de inducción o de diferenciación floral consigue reducir significativamente la floración en muchas especies leñosas. Por otra parte, el rayado de ramas aumenta la disponibilidad de carbohidratos, lo que puede compensar, en parte, su deficiencia derivada del elevado número de flores formadas y de frutos inicialmente cuajados.

En nuestro experimento se aplicó GA<sub>3</sub> a una concentración de 100 mg l<sup>-1</sup> en inducción y diferenciación floral, lo que provocó, en los árboles tratados, 1) una reducción significativa de la floración y 2) un mayor desarrollo de los brotes vegetativos de las inflorescencias indeterminadas, en comparación con los árboles no tratados. La reducción de la floración resultó en un incremento significativo de la producción final, y el rayado de ramas durante la fase exponencial del desarrollo del fruto reforzó este efecto, de modo que los árboles en los que se combinaron ambos tratamientos tuvieron una producción final significativamente mayor que el resto de los tratamientos.

**Palabras clave:** Abscisión, Aguacate, Ácido giberélico, Carbohidratos, Cuajado, Rayado de ramas

**Autor:** Elena Chaveli López

**Tutores:** Carmina Reig Valor y Manuel Agustí Fonfría

Valencia, septiembre de 2023



## **TÍTOL: EFECTE DE L'APLICACIÓ D'ÀCID GIBERÈLIC I RATLLAT SOBRE LA PRODUCCIÓ DE L'ALVOCAT**

### **RESUM:**

L'alvocat (*Persea americana* Mill.) és una espècie d'origen americà de clima tropical. En els últims anys ha adquirit gran importància a Espanya, a causa d'un augment notable de la seua demanda.

En condicions favorables, l'alvocat és capaç de produir al voltant d'un milió de flors, de les quals a penes el 0,001% aconseguen quallar i arribar a la fase de maduració. La raó més important d'això és la seua dicogamia i el curt període d'antesi de les seues flors, la qual cosa obliga al fet de que la fecundació es duga a terme entre varietats d'expressió sexual complementària i en poc menys de 12 h. Malgrat això, en general, un arbre d'alvocat qualla més fruits dels que és capaç de suportar desde el punt de vista nutricional, provocant-se en els períodes de creixement exponencial i lineal del fruit dues caigudes fisiològiques que restringeixen marcadament el nombre de fruits que aconseguen la maduresa.

La nostra hipòtesi de treball és que la baixa productivitat que comporta l'abscisió de fruits pot deure's a una forta competència per carbohidrats entre flors, fruits i desenvolupament vegetatiu.

Per a contrastar aquesta hipòtesi, la reducció de la floració pot ser una tècnica útil, ja que amb això es reduiria la competència entre òrgans en desenvolupament. L'aplicació d'àcid giberelic ( $GA_3$ ) durant el període d'inducció o de diferenciació floral aconseguix reduir significativament la floració en moltes espècies llenyoses. D'altra banda, el ratllat de branques augmenta la disponibilitat de carbohidrats, la qual cosa pot compensar, en part, la seua deficiència derivada de l'elevat nombre de flors formades i de fruits inicialment quallats.

En el nostre experiment, es va aplicar  $GA_3$  a una concentració de 100 mg l<sup>-1</sup> en inducció i diferenciació floral, la qual cosa va provocar, en els arbres tractats, 1) una reducció significativa de la floració i 2) un major desenvolupament dels brots vegetatius de les inflorescències indeterminades, en comparació amb els arbres no tractats. La reducció de la floració va resultar en un increment significatiu de la producció final, i el ratllat de branques durant la fase exponencial del desenvolupament del fruit va reforçar aquest efecte, de manera que els arbres en els quals es van combinar els dos tractaments van tindre una producció final significativament major que la resta dels tractaments.



## **TITLE: EFFECT OF GIBBERELIC ACID APPLICATION AND BRANCH SCORING ON AVOCADO PRODUCTION**

### **ABSTRACT:**

The avocado (*Persea americana* Mill.) is a species of American origin with a tropical climate. In recent years it has acquired great importance in Spain, due to a notable increase in its demand.

Under favorable conditions, the avocado can produce about one million flowers, of which only 0.001% manage to set and reach the ripening stage. The most important reason for this is its dichogamy and the short period of anthesis of its flowers, which forces fertilization to take place between varieties of complementary sexual expression and in a little less than 12 hours. In spite of this, in general, an avocado tree sets more fruit than it is able to support nutritionally, causing two physiological drops in the periods of exponential and linear fruit growth that sharply restrict the number of fruits that reach maturity.

Our working hypothesis is that the low productivity resulting from fruit abscission may be due to a strong competition for carbohydrates between flowers, fruits, and vegetative development.

To test this hypothesis, reduction of flowering may be a useful technique, as it would reduce competition between developing organs. The application of gibberellic acid (GA3) during the induction or flower differentiation period significantly reduces flowering in many woody species. On the other hand, branch scoring increases the availability of carbohydrates, which can compensate, in part, for their deficiency derived from the high number of flowers formed and fruits initially set.

In our experiment, GA3 was applied at a concentration of 100 mg l<sup>-1</sup> in floral induction and differentiation, which caused, in treated trees, 1) a significant reduction in flowering and 2) a greater development of vegetative buds of indeterminate inflorescences, compared to untreated trees. The reduction in flowering resulted in a significant increase in final production, and branch scoring during the exponential phase of fruit development reinforced this effect, so that trees in which both treatments were combined had a significantly higher final production than the rest of the treatments.

**Key words:** Abscission, Avocado, Gibberellic acid, Carbohydrates, Fruit set, Branch scoring.



## **AGRADECIMIENTOS**

Empezar por Carmina y Manolo, gracias por haber confiado en mí para realizar este proyecto, por toda la ayuda recibida durante estos años, por todo lo aprendido, y, sobre todo, gracias, por darme la oportunidad de seguir aprendiendo tanto académica como personalmente con vosotros.

A Amparo, gracias por toda tu ayuda tanto en el laboratorio como fuera del mismo y por contagiar la alegría con la que vienes todos los días.

A Carlos y Andrés, gracias por acogerme y hacerme sentir una más del equipo.

A la empresa Rusticas de l'Horta Nord S.L, por la cesión de parcelas y equipos técnicos de su finca "Oasis" (Puzol, Valencia) para realizar los experimentos.

Finalmente, a mis padres y mis hermanas, por acompañarme en todo momento y hacer que no pierda el rumbo. Especialmente gracias a mi padre y mi yayo, por ser mi fuente de inspiración y mi modelo a seguir.



# ÍNDICE

---

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>1. LA FLORACIÓN DEL AGUACATE</b>	<b>2</b>
<b>2. GENES RESPONSABLES DE LA FLORACIÓN</b>	<b>3</b>
<b>3. LA ALTERNANCIA DE COSECHAS</b>	<b>4</b>
<b>4. LOS FACTORES NUTRICIONALES EN EL PROCESO DE CUAJADO DE LA FLOR</b>	<b>4</b>
<b>5. BAJO PORCENTAJE DE CUAJADO</b>	<b>5</b>
<b>6. TÉCNICAS PARA LA MEJORA DE LA PRODUCCIÓN</b>	<b>5</b>
6.1 REDUCCIÓN DE LA FLORACIÓN	5
6.2 RAYADO DE RAMAS	6
6.3 USO DE INSECTOS POLINIZADORES	6
<b>HIPÓTESIS DE TRABAJO. OBJETIVOS</b>	<b>7</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>9</b>
<b>1. MATERIAL VEGETAL</b>	<b>10</b>
<b>2. DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	<b>10</b>
<b>3. EVALUACIÓN DE LA FLORACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS</b>	<b>12</b>
<b>4. ANÁLISIS CARBOHIDRATOS</b>	<b>12</b>
<b>5. ANÁLISIS GENÉTICO</b>	<b>13</b>
<b>6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	<b>14</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>15</b>
<b>1. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO (GA<sub>3</sub>) SOBRE LA FLORACIÓN</b>	<b>16</b>
<b>2. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO EN LA EXPRESIÓN DE LOS GENES DE LA INDUCCIÓN (<i>PAFT</i>) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (<i>PAAP1</i>, <i>PALFY</i>)</b>	<b>18</b>
<b>3. EFECTO DE LA REDUCCIÓN DE LA FLORACIÓN SOBRE EL CUAJADO DE LA FLOR</b>	<b>21</b>
<b>4. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO SOBRE EL METABOLISMO DE LOS AZÚCARES</b>	<b>23</b>
<b>5. EFECTO DEL RAYADO DE RAMAS EN LA ABCISIÓN DE ÓRGANOS REPRODUCTIVOS</b>	<b>27</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>30</b>
<b>CONCLUSIÓN</b>	<b>35</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>37</b>

## ÍNDICE FIGURAS

- FIG. 1. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE 100 MG L<sup>-1</sup> DE ÁCIDO GIBERÉLICO DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)) SOBRE EL PORCENTAJE DE BROTAÇÃO EN ÁRBOLES DE AGUACATE 'HASS'. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 15 YEMAS REPARTIDAS EN 5 ÁRBOLES. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P ≤ 0.05). ..... 16
- FIG. 2. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE 100 MG L<sup>-1</sup> DE ÁCIDO GIBERÉLICO DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)) EN EL NÚMERO DE BRAZOS POR PANÍCULA (A) Y EN EL NÚMERO DE FLORES POR BRAZO (B) DE ÁRBOLES DE AGUACATE 'HASS'. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 40 PANÍCULAS EN 4 ÁRBOLES. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P ≤ 0.05) ..... 17
- FIG. 3. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE 100 MG L<sup>-1</sup> ÁCIDO GIBERÉLICO DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)) SOBRE EL NÚMERO DE FLORES POR BRAZO APICAL EN ÁRBOLES DE AGUACATE 'HASS'. CADA VALOR ES LA MEDIA DE LOS 11 BRAZOS DE CADA PANÍCULA EN 5 PANÍCULAS POR ÁRBOL, REPARTIDAS EN 4 ÁRBOLES. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P ≤ 0.05) ..... 18
- FIG. 4. EVOLUCIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL GEN PROMOTOR DE LA INDUCCIÓN FLORAL (PAFT) EN HOJAS DE AGUACATE CV. HASS. CADA VALOR REPRESENTA EL PROMEDIO DE 3 RÉPLICAS BIOLÓGICAS Y TRES REPLICAS TÉCNICAS. LAS BARRAS DE ERROR ESTÁNDAR SON MÁS PEQUEÑAS QUE EL TAMAÑO DE LOS SÍMBOLOS. .... 18
- FIG. 5. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE (100 MG L<sup>-1</sup>) DE GA<sub>3</sub> DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN FLORAL SOBRE LA EXPRESIÓN DEL GEN PAFT EN HOJAS DE AGUACATE CV. HASS. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 4 HOJAS, REPARTIDAS EN 4 ÁRBOLES. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. EL ASTERISCO INDICA DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA (P < 0.05) ..... 19
- FIG. 6. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE GA<sub>3</sub> (100 MG L<sup>-1</sup>) EN LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)) SOBRE LA EXPRESIÓN DEL GEN DE LA DIFERENCIACIÓN FLORAL (PAAP1) EN YEMAS DE AGUACATE CV. HASS. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 10 YEMAS REPARTIDAS EN 3 ÁRBOLES POR FECHA. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. LETRAS DIFERENTES PARA UNA MISMA FECHA INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P ≤ 0.05) ..... 20
- FIG. 7. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE GA<sub>3</sub> (100 MG L<sup>-1</sup>) EN LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)) SOBRE LA EXPRESIÓN DEL GEN DE LA DIFERENCIACIÓN FLORAL (PALFY) EN YEMAS DE AGUACATE CV. HASS. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 10 YEMAS REPARTIDAS EN 3 ÁRBOLES POR FECHA. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. LETRAS DIFERENTES PARA UNA MISMA FECHA INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P ≤ 0.05) ..... 20
- FIG. 8. EFECTO DE LA REDUCCIÓN DE LA FLORACIÓN POR LA APLICACIÓN DE 100 MG L<sup>-1</sup> ÁCIDO GIBERÉLICO DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)) SOBRE EL NÚMERO DE FRUTOS POR RAMA (A) Y PESO DEL FRUTO (B) EN ÁRBOLES DE AGUACATE 'HASS'. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 4 RAMAS/ÁRBOL Y DE 30 FRUTOS/ÁRBOL DE 6 ÁRBOLES DIFERENTES. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P ≤ 0.05) ..... 21
- FIG. 9. EVOLUCIÓN DEL NÚMERO DE FRUTOS POR RAMA (A) Y CRECIMIENTO DEL FRUTO (B) EN ÁRBOLES DE AGUACATE 'HASS' TRATADOS CON 100 MG L<sup>-1</sup> DE ÁCIDO GIBERÉLICO DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)). CADA VALOR ES LA MEDIA DE 4 ÁRBOLES Y 5 RAMAS POR ÁRBOL. EN TODOS LOS CASOS LAS BARRAS VERTICALES DEL ERROR ESTÁNDAR SON MÁS PEQUEÑOS QUE EL TAMAÑO DEL SÍMBOLO. LETRAS DIFERENTES INDICAN DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P ≤ 0.05) ..... 23

- FIG. 10. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE 100 MG L<sup>-1</sup> DE ÁCIDO GIBERÉLICO DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)), EN EL CONTENIDO DE SACAROSA EN FLORES Y FRUTOS DE AGUACATE 'HASS'. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 20 FLORES Y 10 FRUTOS. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. LETRAS DIFERENTES PARA UNA MISMA FECHA INDICAN. DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P≤0.05) ..... 24
- FIG. 11. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE 100 MG L<sup>-1</sup> DE ÁCIDO GIBERÉLICO DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)), EN EL CONTENIDO DE GLUCOSA EN FLORES Y FRUTOS DE AGUACATE 'HASS'. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 20 FLORES Y 10 FRUTOS. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. LETRAS DIFERENTES PARA UNA MISMA FECHA INDICAN. DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P≤0.05) ..... 25
- FIG. 12. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE 100 MG L<sup>-1</sup> DE ÁCIDO GIBERÉLICO DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)), EN EL CONTENIDO DE FRUCTOSA EN FLORES Y FRUTOS DE AGUACATE 'HASS'. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 20 FLORES Y 10 FRUTOS. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. LETRAS DIFERENTES PARA UNA MISMA FECHA INDICAN. DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P≤0.05) ..... 25
- FIG. 13. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE 100 MG L<sup>-1</sup> DE ÁCIDO GIBERÉLICO DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)), EN EL CONTENIDO DE MANOHEPTULOSA EN FLORES Y FRUTOS DE AGUACATE 'HASS'. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 20 FLORES Y 10 FRUTOS. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. LETRAS DIFERENTES PARA UNA MISMA FECHA INDICAN. DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P≤0.05) ..... 26
- FIG. 14. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE 100 MG L<sup>-1</sup> DE ÁCIDO GIBERÉLICO DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN (GA<sub>3</sub> (I)) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (II)), EN EL CONTENIDO DE PERSEITOL EN FLORES Y FRUTOS DE AGUACATE 'HASS'. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 20 FLORES Y 10 FRUTOS. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. LETRAS DIFERENTES PARA UNA MISMA FECHA INDICAN. DIFERENCIAS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVAS (P≤0.05) ..... 27
- FIG. 15. EVOLUCIÓN DEL NÚMERO DE FRUTOS POR RAMA (A) Y SU CRECIMIENTO (B) EN ÁRBOLES DE AGUACATE 'HASS' RAYADOS 20 DÍAS DESPUÉS DE LA CAÍDA DE PÉTALOS. CADA VALOR ES LA MEDIA DE 4 ÁRBOLES Y 5 RAMAS POR ÁRBOL. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. \*INDICA DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA (P≤0.05) ..... 28
- FIG. 16. EVOLUCIÓN DEL NÚMERO DE FRUTOS POR RAMA (A) Y SU CRECIMIENTO (B) EN ÁRBOLES DE AGUACATE 'HASS' TRATADOS CON 100 MG L<sup>-1</sup> DE ÁCIDO GIBERÉLICO DURANTE LA ÉPOCA DE INDUCCIÓN FLORAL (GA<sub>3</sub> (I)) Y ÁRBOLES TRATADOS EN INDUCCIÓN FLORAL Y RAYADOS 20 DÍAS DESPUÉS DE LA CAÍDA DE PÉTALOS (GA<sub>3</sub> (I) RY). CADA VALOR ES LA MEDIA DE 4 ÁRBOLES Y 5 RAMAS POR ÁRBOL. LAS BARRAS VERTICALES INDICAN EL ERROR ESTÁNDAR. \* INDICA DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA (P≤0.05) ..... 29

## ÍNDICE TABLAS

TABLA 1: COMPORTAMIENTO FLORAL DEL AGUACATE SEGÚN SU GRUPO FLORAL .....	3
TABLA 2: CEBADORES DE INTERÉS PARA EL ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA .....	14



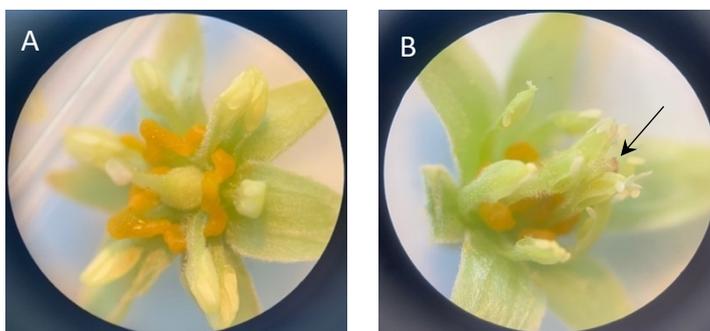
## **INTRODUCCIÓN**



## 1. LA FLORACIÓN DEL AGUACATE

La floración es un proceso complejo que se inicia con la inducción floral, seguida de la diferenciación floral y, finalmente, el desarrollo de las flores. La floración del aguacate tiene una duración de dos meses, aproximadamente, dependiendo de cultivar. La flor es hermafrodita, hipógina, regular, completa y trímera, de 3 a 7 mm de longitud (Whiley *et al.*, 2007). La fecundación de esta especie se ve dificultada por su dicogamia y protoginia, es decir, existe un desacople temporal entre la fase femenina y masculina de la flor, siendo la primera apertura de la flor en fase femenina y posteriormente en fase masculina, además, este proceso solo ocurre durante el día (sincronía diurna). Existen otros factores que condicionan la apertura de la flor, si la temperatura mínima nocturna es de 12°C y la diurna supera los 22°C, la floración transcurre de forma normal; en cambio, si las temperaturas diurnas y nocturnas son inferiores a las referenciadas, las aperturas de la flor en fase masculina y femenina se retrasan (Stout, 1933; Peterson, 1956; Whiley *et al.*, 2007).

En la fase femenina los tépalos se encuentran de forma perpendicular al eje de flor, el pistilo está erecto y con el estigma fresco (Ftg. 1A). Cuando la flor abre en fase masculina el estigma está marchito y los estambres están erectos y segregando polen (Ftg. 1B). La antesis y capacidad de fecundación de la flor tienen una duración de dos días.



*Ftg. 1. Flor de aguacate en estado femenino (A) y en estado masculino (B). La flecha indica el estigma marchito*

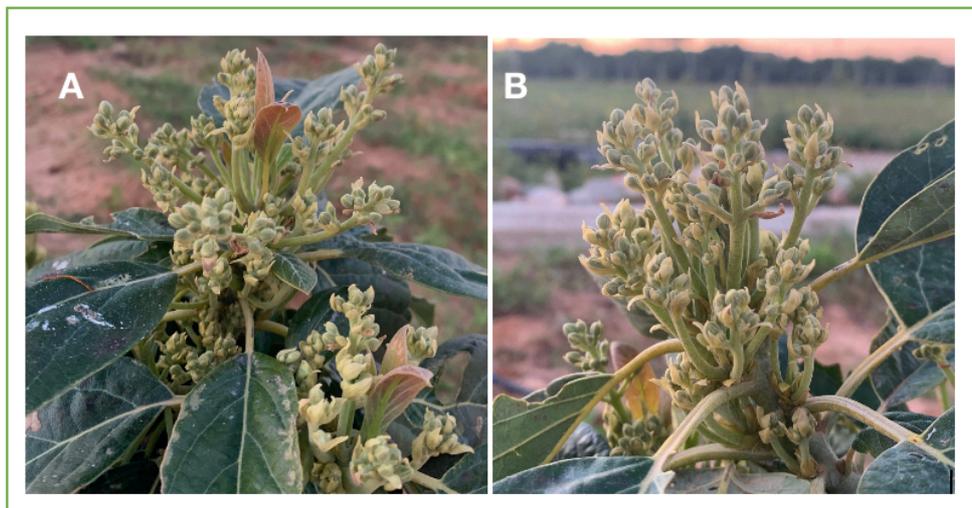
Según el comportamiento floral, los cultivares se distinguen en dos grupos, A y B (Tabla 1). En los del grupo A, la flor abre en fase femenina la mañana del día 1, a mediodía cierra, y vuelve a abrir en fase masculina la tarde del día 2; en los del grupo B, la flor abre en fase femenina la tarde del día 1, cierra al atardecer y vuelve a abrir en fase masculina la mañana del día 2. En una

misma plantación es necesario tener árboles de cultivares de ambos grupos florales para que sea posible la fecundación.

Tabla 1: Comportamiento floral del aguacate según su grupo floral

Comportamiento floral				
Grupo floral	Día 1		Día 2	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
A	Femenina	Cerrada	Cerrada	Masculina
B	Cerrada	Femenina	Masculina	Cerrada

El aguacate produce dos tipos de brotes florales, indeterminados y determinados (Ftg. 2). En los brotes indeterminados, la yema terminal del eje principal continúa el desarrollo vegetativo, y en el caso de los brotes determinados la yema terminal desarrolla flores (Reece, 1942; Schroeder, 1944; Dixon y Sher, 2002; Evans *et al.*, 2010)



Ftg. 2: Panícula indeterminada (A) y determinada (B)

## 2. GENES RESPONSABLES DE LA FLORACIÓN

La inducción floral en el aguacate se produce en otoño-invierno cuando las temperaturas son relativamente bajas o se somete la planta a estrés hídrico. Estas señales activan la expresión del gen *FLOWERING LOCUS (FT)* en las hojas, la proteína FT se transporta vía floema hasta el meristemo apical donde se une formando un dímero a la proteína *FLOWERING LOCUS D (FD)*. Tras la inducción floral, cuando las temperaturas vuelven a aumentar se produce la diferenciación floral y se activa la expresión en cascada de los genes responsables de la misma,

*LEAFY (LFY)*, *APETALLA1 (AP1)* y *SUPPRESSION OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1 (SOC1)*. Sin embargo, hay genes que pueden inhibir la floración, el gen *FLOWERING LOCUS C (FLC)* puede reprimir la expresión del gen *FT* y el gen *TERMINAL FLOWER 1 (TFL1)* reprime la expresión de los genes involucrados en la diferenciación floral.

### **3. LA ALTERNANCIA DE COSECHAS**

La alternancia de cosechas es la tendencia que tiene un árbol a reducir drásticamente la floración, tras un año de elevada producción (año ON); la consecuencia es una escasa producción, o incluso nula, al año siguiente (año OFF). En el aguacate, en el año ON se produce una abundante floración y, por lo tanto, de cuajado, mientras que en el año OFF la floración es muy escasa o incluso puede ser nula. Este fenómeno no es exclusivo del aguacate y afecta a numerosas especies leñosas, por lo que ha sido objeto de numerosos estudios. Se ha comprobado que el fruto inhibe la floración a través de un mecanismo que interfiere en la expresión en las hojas del gen *FLOWERING LOCUS T (FT)*, responsable de la inducción floral (Muñoz-Fambuena *et al.*, 2013). En los cítricos se ha demostrado que dicho mecanismo es la activación epigenética del gen represor *CcMADS19* (Agustí *et al.*, 2020).

### **4. LOS FACTORES NUTRICIONALES EN EL PROCESO DE CUAJADO DE LA FLOR**

Los azúcares solubles y el almidón son los carbohidratos de reserva predominantes para obtener energía para el crecimiento (Daie, 1985; Dey and Dixon, 1985; Liu *et al.*, 1999). En el aguacate, la mayor parte de los carbohidratos de reserva son los azúcares solubles de siete carbonos (C7) (Liu *et al.*, 1999). Se ha sugerido que la abscisión de flores y frutos puede estar relacionada con la competencia por carbohidratos (Scholefield *et al.* 1985). Sin embargo, Finazzo *et al.* (1994) demostraron que la disponibilidad de carbohidratos es suficiente para el desarrollo de hojas y frutos recién cuajados. Además, D'Assaro *et al.* (2021) demostraron que el cuajado en las panículas determinadas es mayor que en las indeterminadas, a pesar de su menor contenido en carbohidratos, y concluyeron que, en el aguacate, el cuajado está regulado hormonalmente.

## 5. BAJO PORCENTAJE DE CUAJADO

El aguacate es capaz de producir hasta un millón de flores por árbol y se estima que sólo llegan a cuajar entre un 0,1% y 0,001% (Whiley *et al.*, 1988). En un mismo árbol puede haber una abscisión de hasta cientos de miles de flores (Cameron *et al.*, 1952; Lahav y Zamet, 1975; Slabbert, 1981; Garner y Lovatt, 2008), y la principal hipótesis de dicha abscisión es una mala sincronización de apertura floral y/o una polinización deficiente.

Además, se ha estimado que la abscisión de frutos recién cuajados se encuentra entre 12.000 y 15.000 frutos en la variedad 'Fuerte' y hasta 100.000 en la variedad 'Hass' (Chandler, 1958; Biran, 1979; Slabbert, 1981; Bekey, 1989; Lahav y Zamet, 1999; Whiley 2007). Según Biran (1979), la mayoría de los frutos de la variedad 'Hass' que caen durante el primer mes de cuajado son frutos que carecen de semilla, permaneciendo en el árbol los frutos más fuertes y vigorosos. Al finalizar la primera caída fisiológica, las temperaturas suben y las plantas cesan su desarrollo (parada estival). Cuando las temperaturas vuelven a disminuir, el crecimiento se reinicia y aparece una fuerte competencia entre frutos en desarrollo y crecimiento vegetativo, provocando la segunda caída fisiológica de frutos. Cabe destacar que, durante el verano, pueden seguir cayendo frutos en respuesta a un estrés térmico.

## 6. TÉCNICAS PARA LA MEJORA DE LA PRODUCCIÓN

### 6.1 Reducción de la floración

El objetivo de la reducción de la floración es evitar la competencia entre flores. De este modo se puede incrementar el cuajado y el número de frutos que inician el desarrollo. La aplicación de ácido giberélico durante la inducción floral o en el momento que empiezan a diferenciarse los primordios florales, reduce la floración. La respuesta no sólo depende de la época de aplicación, sino de la concentración aplicada.

Esta técnica se ha utilizado en especies como cítricos (Monselise y Halevy, 1964), ciruelo (González-Rossia *et al.*, 2006), manzano (Luckwill, 1970; McCartney y Li, 1998; Tromp, 2000) y mango (Turnbull *et al.*, 1996).

En los cítricos se ha demostrado que la aplicación de 40 mg l<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> durante la época de inducción floral reprime la expresión del gen *CiFT* (Muñoz-Fambuena *et al.*, 2012)

## 6.2 Rayado de ramas

El rayado de ramas es una técnica que se utiliza tanto para aumentar el tamaño de los frutos como para reducir la abscisión de los mismos, su efecto depende de la época de realización. Dichos efectos se han demostrado en cítricos (Agustí *et al.*, 1998), níspero japonés (Gariglio *et al.*, 2002), entre otras especies.

Consiste en realizar un corte alrededor del tronco o una rama del árbol que afecte sólo a la corteza y floema, para interrumpir el transporte de carbohidratos vía floema. Desde siempre se ha especulado con que su acción evitando la caída fisiológica de frutos se debía a un aumento de la disponibilidad de carbohidratos por el fruto, favoreciendo de esta manera su nutrición. Estudios recientes demuestran que el rayado altera el balance hormonal de la planta, promoviendo el transporte polar de auxina desde el fruto a la zona de abscisión, protegiéndola y protegiendo, asimismo, los haces vasculares que mantienen su funcionalidad, permitiendo que el fruto prosiga su crecimiento y evitando, así, su caída (Mesejo *et al.*, 2022).

## 6.3 Uso de insectos polinizadores

La polinización ocurre cuando en el momento de la antesis el polen de la antera se transporta hasta el estigma donde queda depositado. Este polen puede ser de la misma planta (autopolinización) o procedente de otra planta (polinización cruzada). En el caso del aguacate es necesaria la polinización cruzada debido a su dicogamia, de este modo, los insectos polinizadores transfieren el polen desde cultivares del Grupo A al Grupo B de floración, y viceversa (ver apt. 1, Tabla 1).

La presencia de insectos polinizadores durante la floración puede ser una de las herramientas para obtener una mayor tasa de cuajado inicial. En España, el insecto polinizador más abundante para la polinización del aguacate es la abeja melífera (*Aphis mellifera*), pero este insecto ve poco atractiva la flor del aguacate, por lo que, si hay otras especies de cultivo alrededor en las que la floración es coincidente en el tiempo, la abeja tiene tendencia a polinizarlas, dejando sin polinizar las flores del aguacate. En México se han identificado especies de abejas sin aguijón que han resultado ser polinizadores silvestres eficaces (Whiley *et al.*, 2007). En Israel, recientes estudios indican que la combinación de colmenas abejas melíferas y abejorros (*Bombus terrestris*) mejora la polinización y se consigue un mayor cuajado (Stern *et al.*, 2021).



**HIPÓTESIS DE TRABAJO. OBJETIVOS**



## HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

La Hipótesis de Trabajo de este TFM es:

**La inhibición parcial de la floración aumenta el número de frutos que inician el desarrollo en el aguacate.**

Para demostrarla, hemos cubierto los siguientes objetivos:

1. Estudio del efecto de la aplicación de ácido giberélico ( $GA_3$ ) durante el reposo sobre la intensidad de floración y su relación con el cuajado.
2. Estudio del efecto de la aplicación de ácido giberélico ( $GA_3$ ) durante el reposo sobre la expresión de los genes involucrados en la inducción (*PaFT*) y diferenciación floral (*PaAP1* y *PaLFY*) y el reparto de carbohidratos.
3. Estudio del efecto del rayado de ramas en combinación con la reducción de la floración sobre la primera caída fisiológica de frutos.



## **MATERIAL Y MÉTODOS**



## 1. MATERIAL VEGETAL

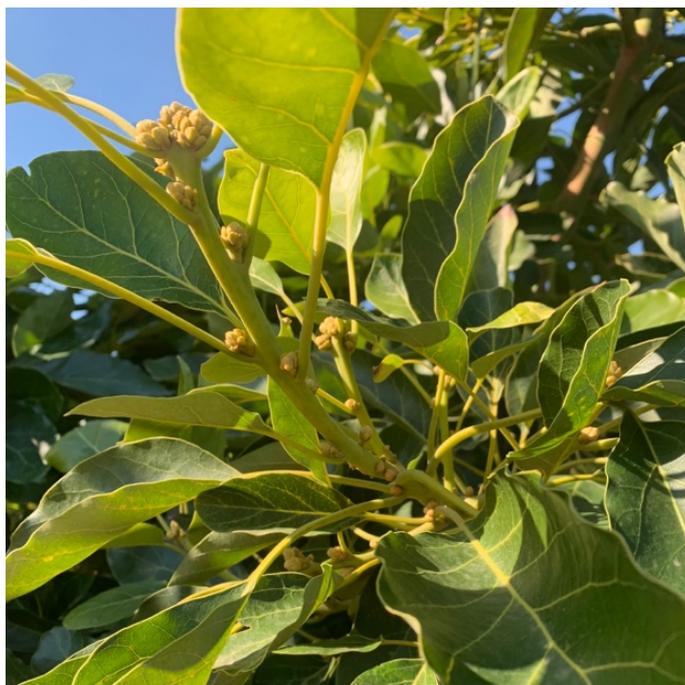
Los experimentos se realizaron en una explotación comercial de árboles adultos de aguacate (*Persea americana* Mill) cv. 'Hass', utilizando el cv. 'Bacon' como polinizador en una proporción del 7%, y situada en Puzol (Valencia). Ambas variedades estaban injertadas sobre el patrón Duke 7 y con un marco de plantación de 6 x 5 m. Los árboles seleccionados se encontraban en óptimas condiciones nutricionales y con riego localizado.

## 2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el experimento se seleccionaron 3 filas de 20 árboles cada una separadas por una que hacía a la vez de guarda. En el mes de diciembre (07/12/2020; Ftg. 3) y de febrero (03/02/2021; Ftg. 4), momento de la inducción y de la diferenciación floral, respectivamente, se aplicaron 100 mg l<sup>-1</sup> de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) en dos de las filas, utilizando la tercera como control. A la solución de GA<sub>3</sub> se añadió un agente tensoactivo no iónico a una concentración de 0,01%. Las aplicaciones se realizaron con un tanque a presión de 2000 L, conectado a la toma de fuerza de un tractor, durante las primeras horas de la mañana, mojando la copa del árbol en su totalidad hasta el goteo. De cada fila se eligieron 5 árboles al azar como unidad experimental.



*Ftg.3: Estado de desarrollo de las yemas en el momento de la inducción floral (primer tratamiento).*



*Ftg.4. Estado de desarrollo de las yemas en el momento de la diferenciación floral (segundo tratamiento).*

En otros 5 árboles, seleccionados también al azar, de las filas control y tratada en inducción floral, se rayaron las ramas principales 20 días después de la caída de pétalos (Ftg. 5) para estudiar la primera caída fisiológica de frutos.



*Ftg.5. Rayado de una de las ramas principales. El rayado se realizó con tijeras especialmente diseñadas para ello, cortando la corteza y el floema en toda la circunferencia de la rama y sin afectar al xilema.*

### **3. EVALUACIÓN DE LA FLORACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS**

Para evaluar la brotación y floración se contó, en primavera, el número de yemas brotadas de 5 ramas aleatorias por árbol. Posteriormente, se muestrearon 15 ramas de, aproximadamente, 20 centímetros y en el laboratorio se contó el número de panículas por brote de cada rama, el número de brazos de cada panícula y el número de flores de cada brazo, teniendo así el número total de flores por brote; además, se midió la longitud de cada brazo terminal de las panículas determinadas y se pesaron 50 flores de cada panícula.

Para evaluar el cuajado inicial se eligieron, de forma aleatoria, 4 ramas por árbol, se marcaron y se contó, periódicamente, el número de frutos por rama hasta el final de la primera caída fisiológica de frutos. Para evaluar el desarrollo del fruto se midió el diámetro (mm) con un pie de rey y se tomaron al azar 10 frutos por tratamiento, de los árboles seleccionados, para determinar su peso individual.

Periódicamente, se muestrearon hojas, yemas, flores en preantesis y antesis, frutos recién cuajados y frutos en crecimiento. Todas las muestras se congelaron con N líquido y se almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su procesado. Las flores y frutos se utilizaron para analizar el contenido en carbohidratos, y las hojas y yemas para evaluar la expresión génica de los genes de interés.

### **4. ANÁLISIS CARBOHIDRATOS**

El protocolo de extracción para el análisis de carbohidratos que se tomó de referencia es el de Eshghi et al. (2007).

Las muestras se liofilizan y se muelen a polvo fino, pesando 100 mg de cada muestra. Las muestras molidas se pasan a tubos de ensayo y se les añade 100 $\mu\text{L}$  de D-manitol (30 mg ml $^{-1}$ ) (Sigma-Aldrich Química, Madrid, España) como estándar interno y 4 ml de etanol al 80%, estas muestras se homogenizan en el vórtex, y se incuban en baño a  $80^{\circ}\text{C}$  durante 60 minutos, homogenizando la muestra en el vórtex cada 10 minutos. Una vez pasados los 30 minutos, se centrifugan las muestras usando la centrifuga Digicen 20R Ortoalresa (España) durante 10 minutos a 4000 rpm a  $4^{\circ}\text{C}$ , se recoge el sobrenadante y se pasa a un tubo eppendorf para evaporar la muestra en el concentrador de vacío Thermo Scientific Savant SpeedVac (SAVANT®, Holbrook, N.Y., EEUU), con el sedimento restante se repite la extracción añadiendo 4 ml de etanol, se homogeniza la muestra en el vórtex y se vuelven a incubar en baño, esta vez, 45 minutos, homogenizando la muestra cada 10 minutos. Pasados los 45 minutos, se centrifugan

las muestras 10 minutos a 4000 rpm a 5°C y se recoge el sobrenadante, posteriormente, se junta el sobrenadante con el sobrenadante diluido de la primera extracción y se evapora la muestra en concentrador de vacío SpeedVac reduciéndolas a sequedad.

Las muestras reducidas a sequedad se disuelven en 4 mL de agua desionizada y se añaden 10 mg de Activated Charcoal y se homogeniza bien en el vórtex. Una vez homogenizada, la muestra se centrifuga a 11.000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Al finalizar la centrifugación, se recoge el sobrenadante y se filtra utilizando 1 mL de agua miliQ y una membrana de nylon de 0,45 µm (Waters Millipore, Barcelona, Spain). Posteriormente, se analizaron los azúcares utilizando un HPLC Agilent Technologies conectado a un detector de Índice de refracción.

## 5. ANÁLISIS GENÉTICO

El RNA se extrajo de yemas de aguacate según el método descrito por Martínez-Fuentes et al. (2015) con ciertas modificaciones. El protocolo de extracción está dividido en dos partes y tiene una duración de dos días.

Durante el primer día, el material congelado se molió a polvo fino con un mortero preenfriado y una maza, utilizando nitrógeno líquido para evitar que el material se descongelase. Se prepara el buffer de extracción: 3% CTAB, 1,4 M NaCl, 200 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl (pH 8,0) y 4% β-mercaptoethanol, este último se añade después de calentar el buffer. Posteriormente, se transfieren 0,5 g de muestra en polvo fino y 400 mg de PVPP, a un tubo de 30 ml que contenga 5 ml del buffer de extracción previamente calentado a 65°C, se homogeniza la muestra con el vórtex durante 1 minuto y se incuba en baño a 65°C durante 25 minutos, homogenizando la muestra en el vórtex cada 10 minutos. Al finalizar el tiempo, se añade 1 ml de Acetato de Potasio 3 M (pH 5,5) y se incuba en hielo durante 30 minutos.

El siguiente paso consiste en añadir 1 ml de fenol cloroformo alcohol isoamílico (25:24:1), se homogeniza con el vórtex y se centrifuga a 10.000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Cuando termina el tiempo de centrifuga, se recupera el sobrenadante, se añade 1 volumen de fenol cloroformo alcohol isoamílico (25:24:1) y se vuelve a centrifugar a 10.000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Este proceso se repite una vez más, al finalizar, se recupera el sobrenadante y se añade 1 volumen de cloroformo isoamílico (25:1) con el objetivo de eliminar los compuestos fenólicos restantes.

Cuando finaliza la última centrifugación, se recupera el sobrenadante y se añade 1 volumen de isopropanol e incubamos a -80°C toda la noche.

Al día siguiente, se centrifugan las muestras a 10.000 rpm durante 20 minutos a 4°C y se desecha el sobrenadante, quedándonos con el sedimento. A continuación, se lava el sedimento con

etanol 70% (se utilizan 200-500  $\mu$ l dependiendo del tamaño del pellet) y se centrifuga a 10.000 rpm durante 5 minutos a 4°C, al finalizar la centrifugación, se seca el pellet. Posteriormente, se resuspende el pellet en 1 ml de Tris-HCL 10 mM (pH 7,5), se centrifuga 4 minutos a 11.000 rpm y se recupera el sobrenadante y se transfiere a un eppendorf de 1,5 ml teniendo cuidado de no pipetear partículas no disueltas. Se añaden 250  $\mu$ l de LiCl y se mezcla suavemente con la pipeta y se incuba a -80°C durante dos horas. Al finalizar el tiempo, se centrifugan las muestras a 11.000 rpm durante 20 minutos a 4°C, al terminar la centrifugación, se elimina el sobrenadante y se conserva el pellet. Este se lava con 100  $\mu$ l de etanol 70% y se vuelve a centrifugar a 11.000 rpm durante 5 minutos a 4°C, al finalizar se elimina el sobrenadante y se seca el sedimento al aire durante 30 minutos y se suspende en 100  $\mu$ l de agua libre de RNAsas para comprobar la calidad y cantidad de RNA libre obtenido, se utilizó un equipo NanoDrop.

Con el fin de cuantificar cómo han afectado los tratamientos a la floración, se han seleccionado los genes responsables de la inducción (*PaFT*) y diferenciación floral (*PaAP1* y *PaLFY*), de los que se analizó su expresión en hojas y yemas, respectivamente. El gen de síntesis de actina (*PaACT*) se utilizó como gen de referencia. Los cebadores se eligieron a partir del estudio realizado por Ziv *et al.*, 2014 (Tabla 2). Cada análisis conlleva tres replicas biológicas y tres técnicas.

Tabla 2: Cebadores de interés para el análisis de expresión génica

Gen	Primer	Secuencia (5' a 3')
<i>PaFT</i>	PaFT-1	5' TACTTGCACTGGTTGGTGACAGNT 3'
<i>PaAP1</i>	PaAP1-1	5' TCTGAGGGAAACTGGTGCCAAGAA3'
<i>PaLFY</i>	PaLFY-1	5' GCAGCGTGAACATCCCTTCATTGT 3'
<i>PaACT</i>	PaACT-1	5' TGAAATACCCCATGAGCATGG 3'

## 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de la varianza (ANOVA), utilizando el test de Newman-Keuls para la separación de medias. En el caso de los resultados con valores porcentuales se les aplicó la transformación de arcsen ( $\sqrt{p}$ ).



## **RESULTADOS**



## 1. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO (GA<sub>3</sub>) SOBRE LA FLORACIÓN

La aplicación de GA<sub>3</sub> a una concentración de 100 mg l<sup>-1</sup> en la época de inducción floral redujo la brotación en un 30% respecto al control. Mientras en el control brotaron el 77% de las yemas, en los tratados, fue del 47% (Fig. 1). Del mismo modo, los árboles tratados en la época de diferenciación floral, a la misma concentración, también redujeron el porcentaje de brotación en un 37% respecto del control (Fig. 1).

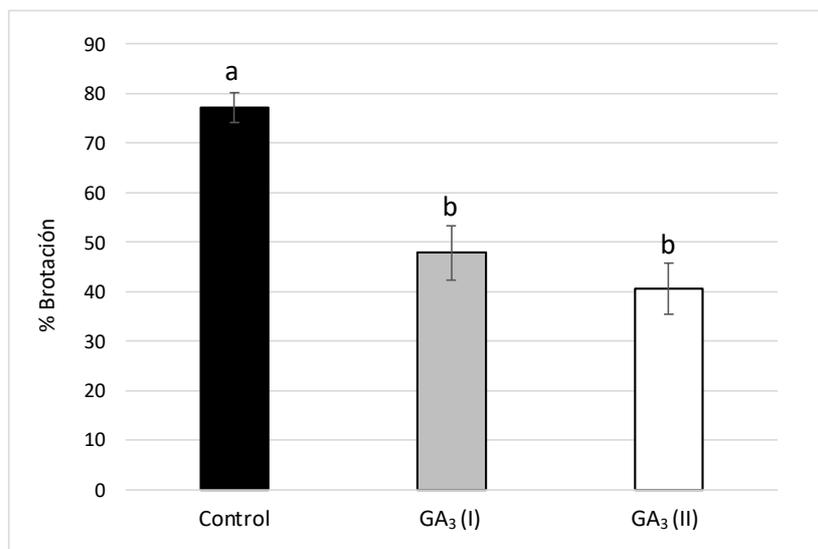


Fig. 1. Efecto de la aplicación de 100 mg l<sup>-1</sup> de ácido giberélico durante la época de inducción (GA<sub>3</sub> (I)) y diferenciación floral (GA<sub>3</sub> (II)) sobre el porcentaje de brotación en árboles de aguacate 'Hass'. Cada valor es la media de 15 yemas repartidas en 5 árboles. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ).

El GA<sub>3</sub> también afectó a la morfología de la inflorescencia. En este caso, no fue efectivo cuando se realizó durante la inducción floral, ya que tanto el número de brazos por panícula, como el número de flores por brazo no tuvo diferencias significativas respecto al control (Fig. 2A y Fig. 2B). Sin embargo, cuando los árboles se trataron durante la diferenciación floral el número de brazos por panícula se redujo en 2,5, por término medio (Fig. 2A), sin tampoco modificar el número de flores por brazo (Fig. 2B)

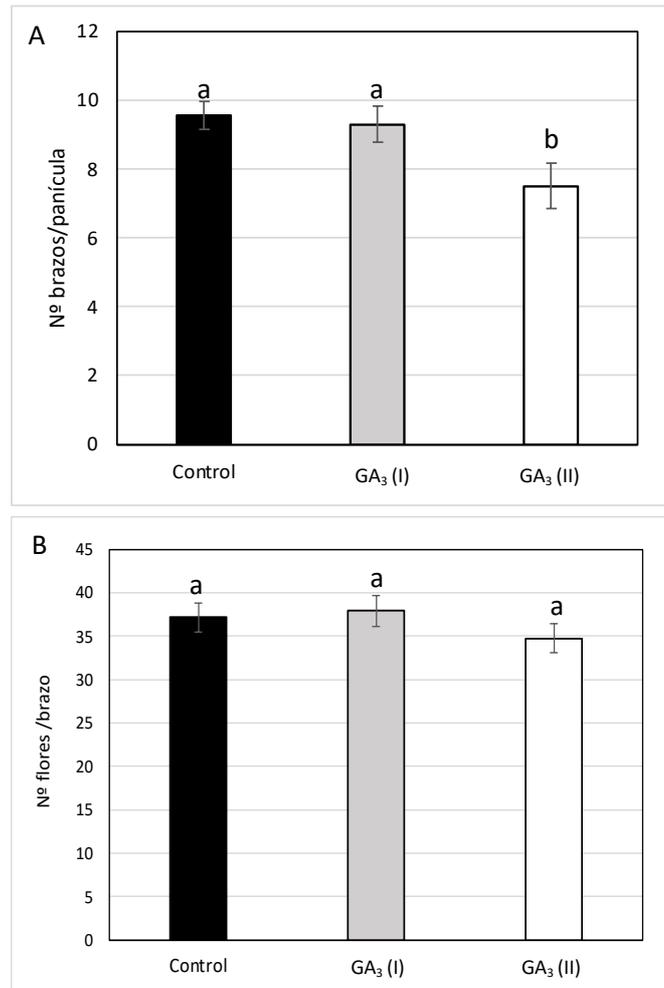


Fig. 2. Efecto de la aplicación de  $100 \text{ mg l}^{-1}$  de ácido giberélico durante la época de inducción (GA<sub>3</sub> (I)) y diferenciación floral (GA<sub>3</sub> (II)) en el número de brazos por panícula (A) y en el número de flores por brazo (B) de árboles de aguacate 'Hass'. Cada valor es la media de 40 panículas en 4 árboles. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ )

Sin embargo, al estudiar el efecto de la hormona en el número de flores del brazo terminal de la inflorescencia, en ambos casos se redujo. Cuando se aplicó en el momento de la inducción floral, la reducción, respecto del control, fue de 16, y cuando se hizo en el momento de la diferenciación de 51 (Fig. 3), alcanzando en ambos casos la significación estadística.

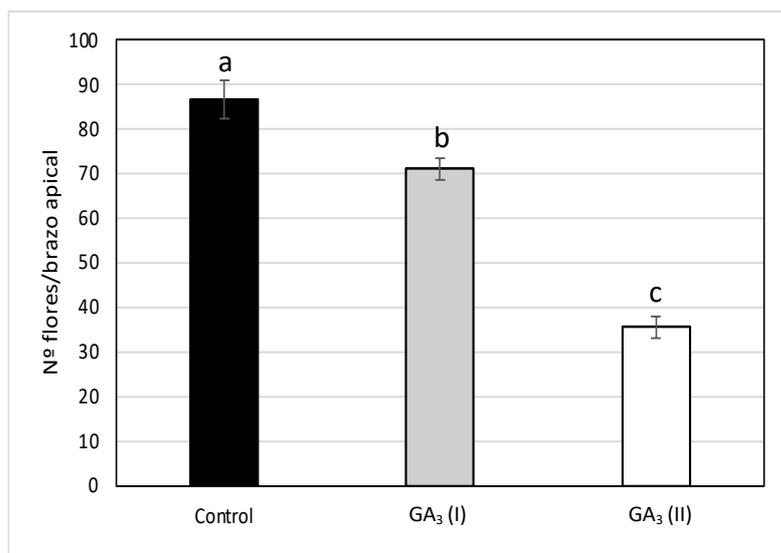


Fig. 3. Efecto de la aplicación de  $100 \text{ mg l}^{-1}$  ácido giberélico durante la época de inducción ( $\text{GA}_3$  (I)) y diferenciación floral ( $\text{GA}_3$  (II)) sobre el número de flores por brazo apical en árboles de aguacate 'Hass'. Cada valor es la media de los 11 brazos de cada panícula en 5 panículas por árbol, repartidas en 4 árboles. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ )

## 2. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO EN LA EXPRESIÓN DE LOS GENES DE LA INDUCCIÓN (*PaFT*) Y DIFERENCIACIÓN FLORAL (*PaAP1*, *PaLFY*)

El gen regulador de la inducción floral en el aguacate (*PaFT*) mostró un pico máximo de expresión a mediados de diciembre, estableciéndose ahí la época de inducción floral en esta especie (Fig. 4). Posteriormente, éste descendió bruscamente hasta valores prácticamente nulos.

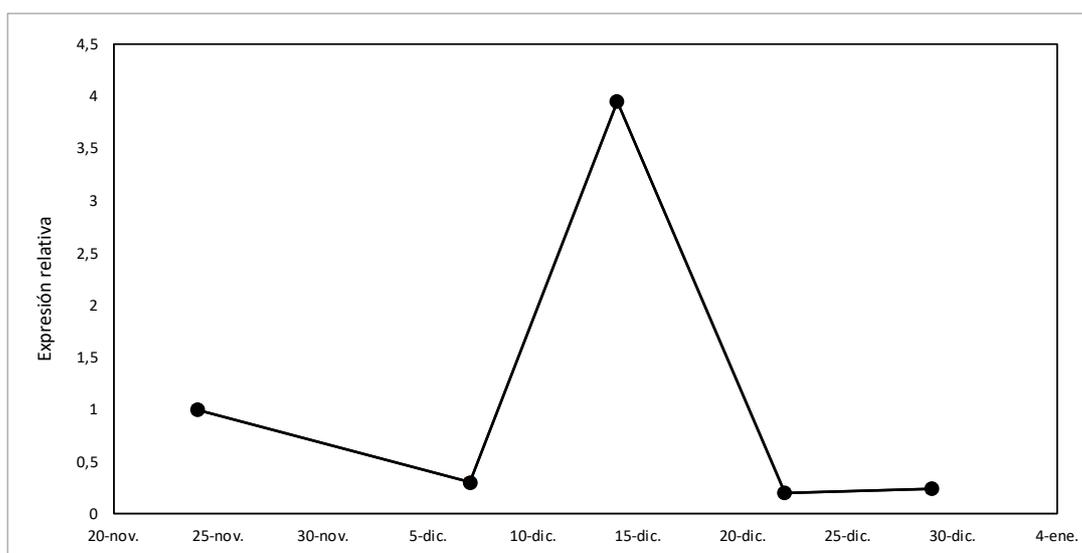


Fig. 4. Evolución de la expresión del gen promotor de la inducción floral (*PaFT*) en hojas de aguacate cv. Hass. Cada valor representa el promedio de 3 réplicas biológicas y tres replicas técnicas. Las barras de error estándar son más pequeñas que el tamaño de los símbolos.

La aplicación de GA<sub>3</sub> a una concentración de 100 mg l<sup>-1</sup> durante la época de inducción floral redujo significativamente la expresión del gen *PaFT* 20 días después del tratamiento (Fig. 5), cuando la expresión de este gen era máxima (ver Fig. 4). Sin embargo, 8 días más tarde este efecto se perdió y la expresión del gen en los árboles tratados y control, fue la misma (Fig. 5).

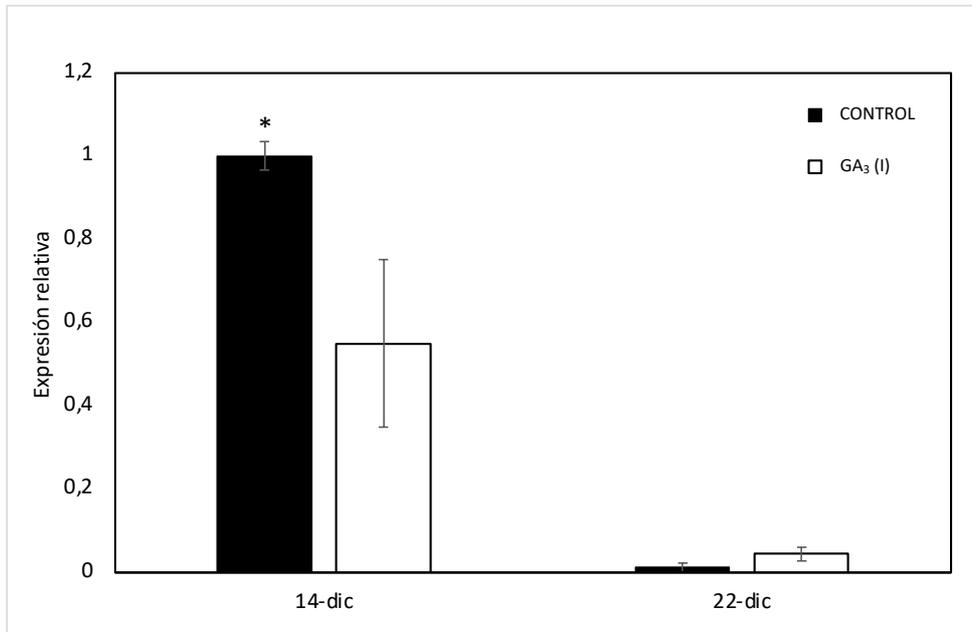


Fig. 5. Efecto de la aplicación de (100 mg l<sup>-1</sup>) de GA<sub>3</sub> durante la época de inducción floral sobre la expresión del gen *PaFT* en hojas de aguacate cv. Hass. Cada valor es la media de 4 hojas, repartidas en 4 árboles. Las barras verticales indican el error estándar. El asterisco indica diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ).

La aplicación de ácido giberélico en la época de inducción y diferenciación floral mostró resultados distintos respecto a la expresión del gen *PaAP1*. Así, mientras el control y los árboles tratados durante la diferenciación floral mostraron prácticamente la misma expresión, los tratados durante inducción floral mostraron una mayor expresión que llegó a alcanzar la significación estadística (Fig. 6). Sin embargo, 23 días más tarde, la expresión de *PaAP1* en los árboles tratados, independientemente de cuándo se hiciera, inducción o diferenciación floral, fue significativamente mayor que en los árboles control (Fig. 6), sin diferir entre ellos.

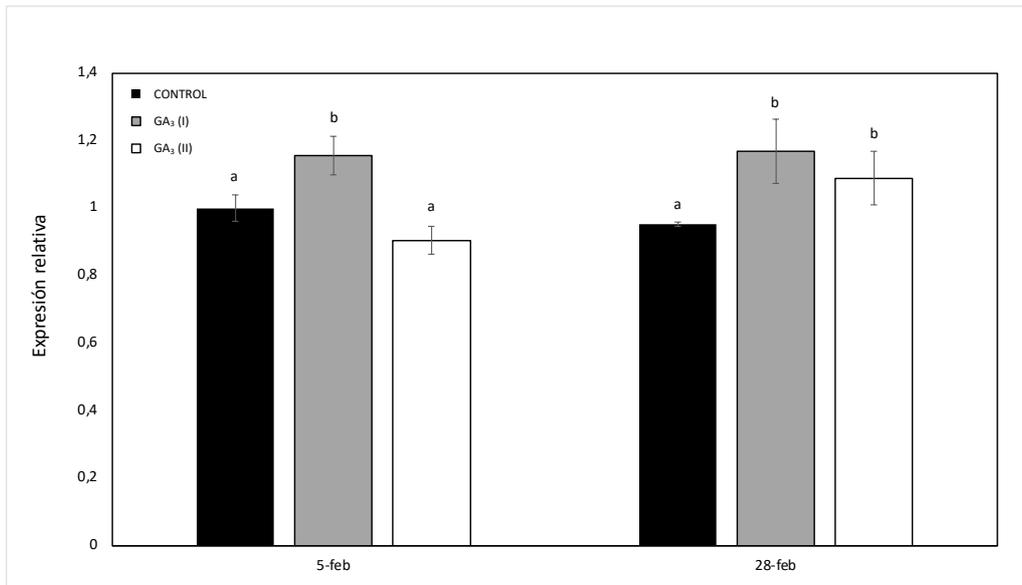


Fig. 6. Efecto de la aplicación de GA<sub>3</sub> (100 mg l<sup>-1</sup>) en la época de inducción (GA<sub>3</sub> (I)) y diferenciación floral (GA<sub>3</sub> (II)) sobre la expresión del gen de la diferenciación floral (PaAP1) en yemas de aguacate cv. Hass. Cada valor es la media de 10 yemas repartidas en 3 árboles por fecha. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ )

Un comportamiento diferente se observó en la expresión de PaLFY. En este caso, aunque tampoco se observaron diferencias entre el control y los tratados durante la diferenciación floral, su expresión fue significativamente superior a la de los árboles tratados en inducción floral (Fig. 7). Estas diferencias se perdieron con el tiempo y 23 días más tarde, la expresión de PaLFY fue la misma en las yemas de todos los árboles, independientemente de si se trataron o no, y de la época en que se hizo (Fig. 7).

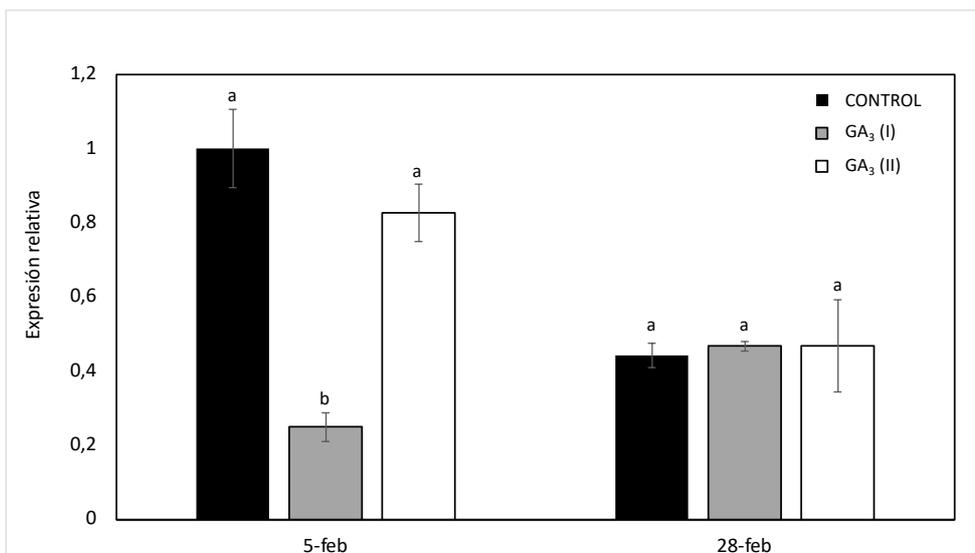


Fig. 7. Efecto de la aplicación de GA<sub>3</sub> (100 mg l<sup>-1</sup>) en la época de inducción (GA<sub>3</sub> (I)) y diferenciación floral (GA<sub>3</sub> (II)) sobre la expresión del gen de la diferenciación floral (PaLFY) en yemas de aguacate cv. Hass. Cada valor es la media de 10 yemas repartidas en 3 árboles por fecha. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ )

### 3. EFECTO DE LA REDUCCIÓN DE LA FLORACIÓN SOBRE EL CUAJADO DE LA FLOR

El cuajado se vio significativamente alterado por estos tratamientos. Así, los árboles que se trataron durante la inducción floral y, en consecuencia, redujeron su intensidad de floración, tuvieron un mayor número de frutos por rama (17) respecto del control (7), pero su peso medio no se alteró (Fig. 8B).

Algo parecido se observó en los árboles que se trataron durante la diferenciación floral. En este caso, 20 días después de la antesis el número de frutos fue mayor en los árboles tratados y, por lo tanto, en aquellos en los que se redujo el número de flores por inflorescencia (9,5), que en los controles (7). Tampoco en este caso el peso de los frutos difirió respecto del control (Fig. 8B).

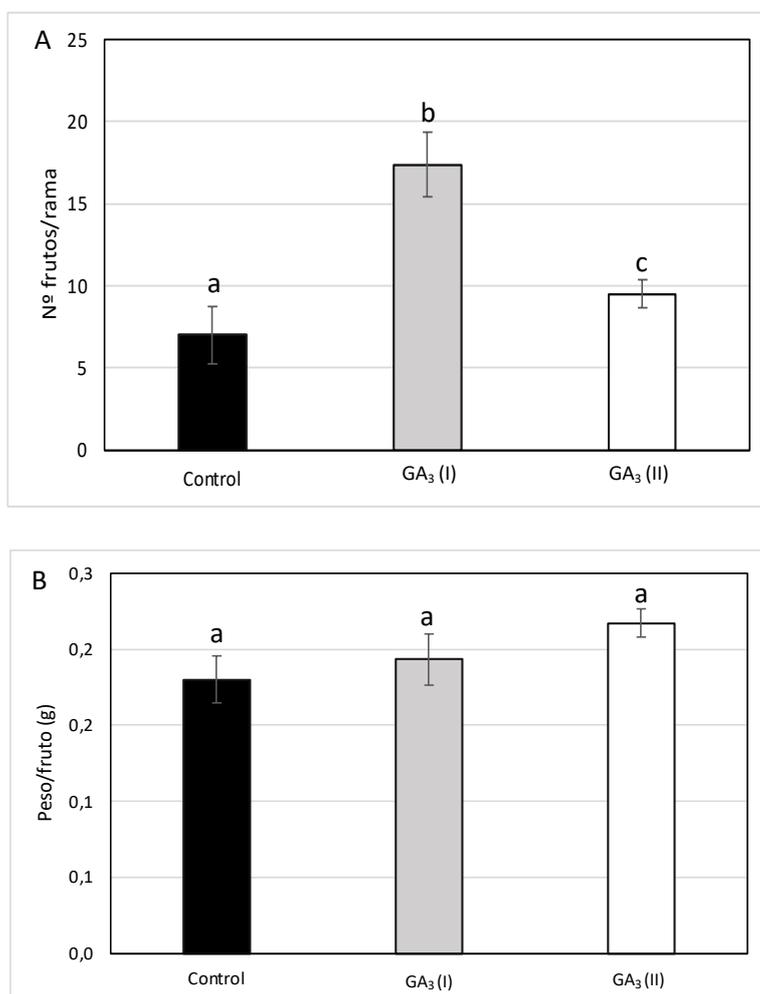
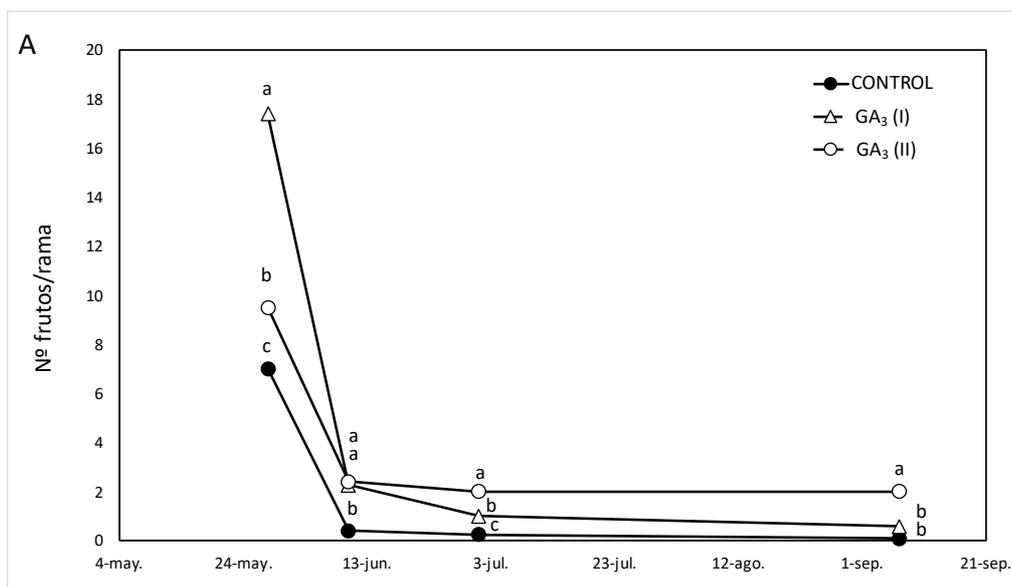


Fig. 8. Efecto de la reducción de la floración por la aplicación de 100 mg l<sup>-1</sup> ácido giberélico durante la época de inducción (GA<sub>3</sub> (I)) y diferenciación floral (GA<sub>3</sub> (II)) sobre el número de frutos por rama (A) y peso del fruto (B) en árboles de aguacate 'Hass'. Cada valor es la media de 4 ramas/árbol y de 30 frutos/árbol de 6 árboles diferentes. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P ≤ 0.05)

Al estudiar la evolución del cuajado también se observaron diferencias entre los tratamientos. Así, las diferencias encontradas en el número de frutos en el momento del cuajado inicial (Fig. 9A) se redujeron significativamente, y 20 días más tarde los árboles tratados en las dos épocas tuvieron, prácticamente, el mismo número de frutos (2,3), pero en número significativamente mayor que en los árboles control (0,4) (Fig. 9A).

Aproximadamente 14 días más tarde, mientras en los árboles tratados durante la diferenciación floral y en el control el número de frutos se mantuvo, en los tratados durante la inducción se redujo hasta 0,3 frutos/rama.

Finalmente, a principios de septiembre, después de la segunda caída fisiológica de frutos, sólo los árboles tratados durante la diferenciación floral mostraron diferencias significativas y tuvieron más frutos (2) que los tratados durante la inducción floral (0,28) y que los árboles control (0,08) (Fig. 9A). En cuanto al crecimiento del fruto, se encontraron diferencias significativas de los árboles tratados respecto de los controles. Al final de la fase exponencial de desarrollo del fruto, el diámetro de los controles era de 51,3 mm y los tratados en inducción y diferenciación 55,4 mm y 57,1 mm, respectivamente (Fig. 9B).



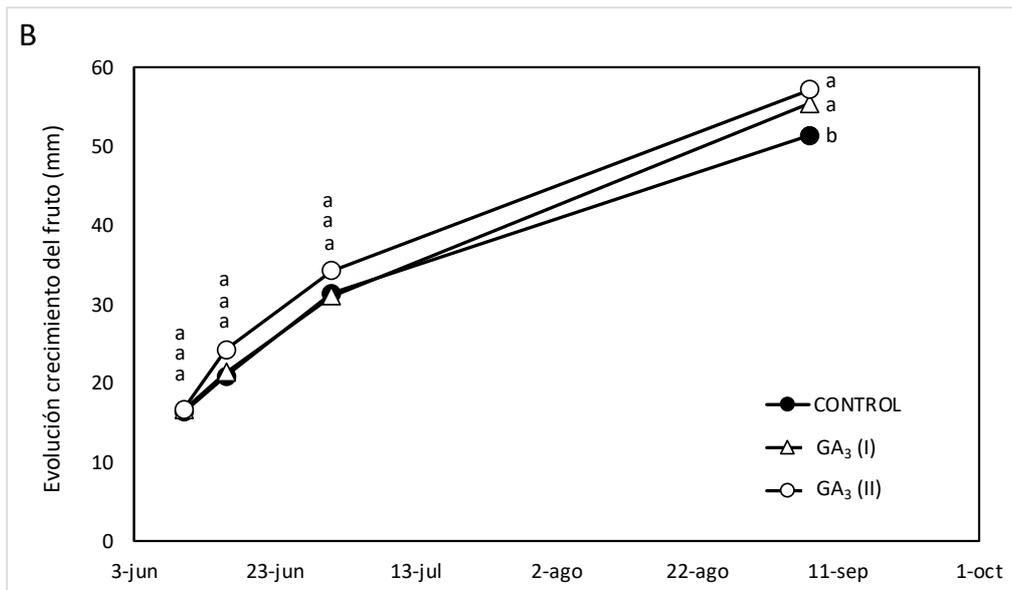


Fig. 9. Evolución del número de frutos por rama (A) y crecimiento del fruto (B) en árboles de aguacate 'Hass' tratados con  $100 \text{ mg l}^{-1}$  de ácido giberélico durante la época de inducción ( $\text{GA}_3$  (I)) y diferenciación floral ( $\text{GA}_3$  (II)). Cada valor es la media de 4 árboles y 5 ramas por árbol. En todos los casos las barras verticales del error estándar son más pequeños que el tamaño del símbolo. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ).

#### 4. EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ÁCIDO GIBERÉLICO SOBRE EL METABOLISMO DE LOS AZÚCARES

En el momento de la preantesis, la evolución de la concentración de sacarosa fue ligeramente superior ( $21,8 \text{ mg/g ps}$ ) en las flores de los árboles control que en la de los árboles que se trataron en el momento de la inducción y diferenciación floral, que fue de ( $14,9$  y  $11,1 \text{ mg/g ps}$ ), respectivamente. Sin embargo, un mes más tarde, en plena antesis, esta situación se invirtió y fueron las flores de los árboles tratados en inducción ( $62,5 \text{ mg/g ps}$ ) y diferenciación floral ( $66,5 \text{ mg/g ps}$ ) las que tuvieron significativamente más sacarosa que los flores control ( $46,2 \text{ mg/g ps}$ ) (Fig. 10). Posteriormente, 20 días más tarde, la concentración de este azúcar descendió hasta  $27,1 \text{ mg/g ps}$ , por término medio, en todos los tratamientos, y siguió bajando paralelamente en las dos fechas siguientes hasta alcanzar valores prácticamente nulos en la última fecha de análisis para los tres tratamientos (Fig. 10).

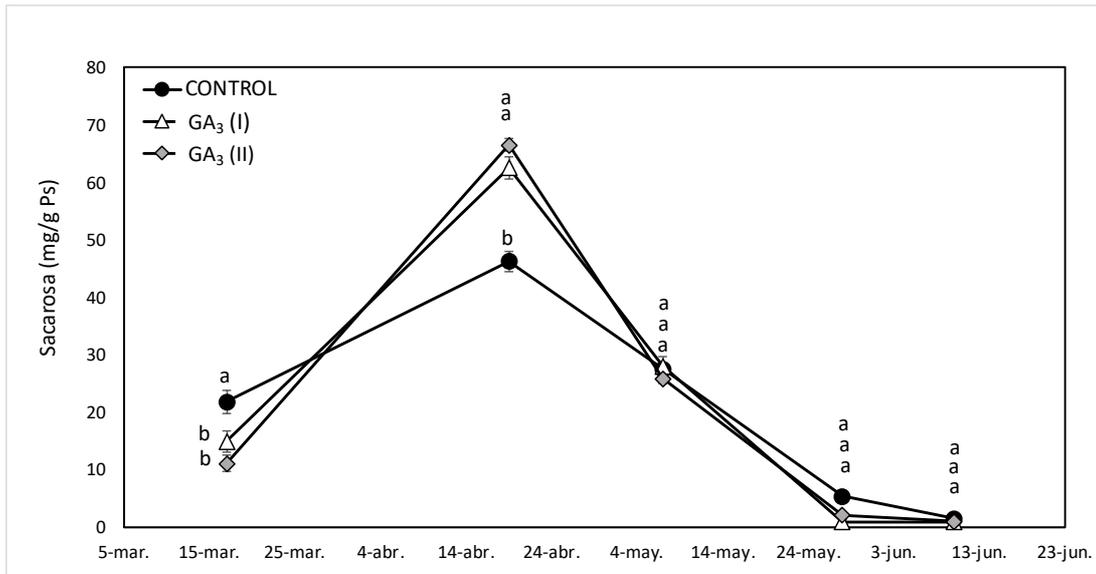


Fig. 10. Efecto de la aplicación de  $100 \text{ mg l}^{-1}$  de ácido giberélico durante la época de inducción ( $\text{GA}_3$  (I)) y diferenciación floral ( $\text{GA}_3$  (II)), en el contenido de sacarosa en flores y frutos de aguacate 'Hass'. Cada valor es la media de 20 flores y 10 frutos. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ )

La concentración de glucosa se mantuvo prácticamente estable y sin diferencias significativas entre los tratamientos hasta pasar la antesis, momento en que fue aumentando notablemente en todos los casos siendo ligeramente superior en las flores de los árboles que se trataron con  $\text{GA}_3$  en el momento de la diferenciación floral (Fig. 11). Veinte días más tarde, en pleno periodo de cuajado, la concentración de glucosa descendió bruscamente un 65%, 34% y 88% en los árboles tratados en inducción y diferenciación floral y control, respectivamente, alcanzando este último su valor más bajo (Fig. 11). Sin embargo, a los 15 días, una vez finalizado el cuajado e iniciándose el crecimiento del ovario, la concentración de glucosa aumentó notablemente en todos los tratamientos hasta alcanzar valores aproximadamente similares de  $48,6 \text{ mg/g ps}$  por término medio (Fig. 11).

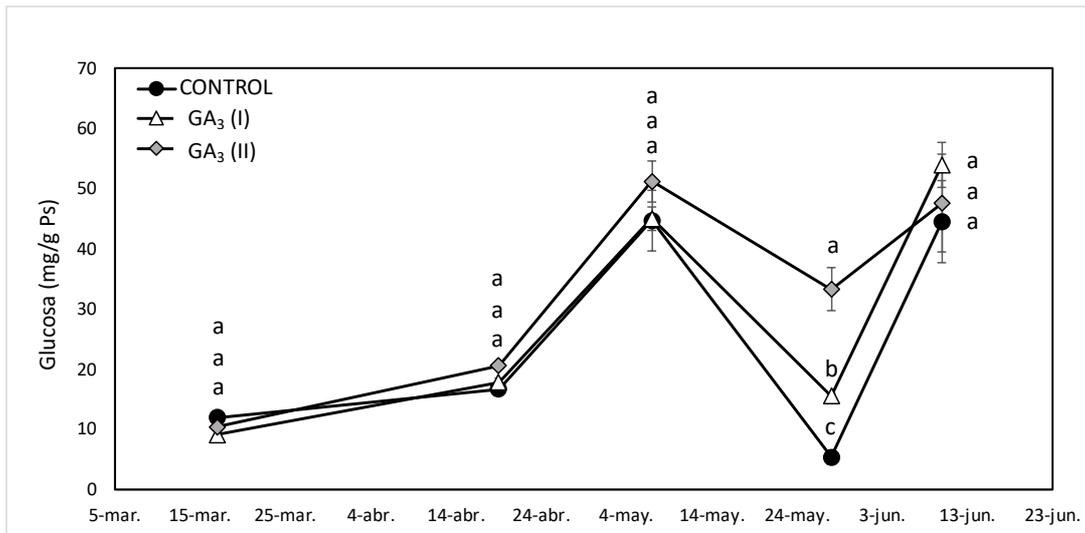


Fig. 11. Efecto de la aplicación de  $100 \text{ mg l}^{-1}$  de ácido giberélico durante la época de inducción ( $\text{GA}_3$  (I)) y diferenciación floral ( $\text{GA}_3$  (II)), en el contenido de glucosa en flores y frutos de aguacate 'Hass'. Cada valor es la media de 20 flores y 10 frutos. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ )

La fructosa mostró una evolución similar a la de la glucosa, aumentando su contenido durante la preantesis hasta alcanzar valores máximos de (77,2 mg/g ps) en promedio, independientemente del tratamiento (Fig. 12). Durante el cuajado, la concentración de fructosa descendió drásticamente en el control, hasta un 93%, mientras que en los tratados en inducción y diferenciación floral lo hizo en un 29% y 13%, respectivamente (Fig. 12). Finalmente, durante el inicio del desarrollo del ovario, la concentración de fructosa aumentó en todos los casos hasta igualarse y alcanzar un valor promedio de 80,2 mg/g ps.

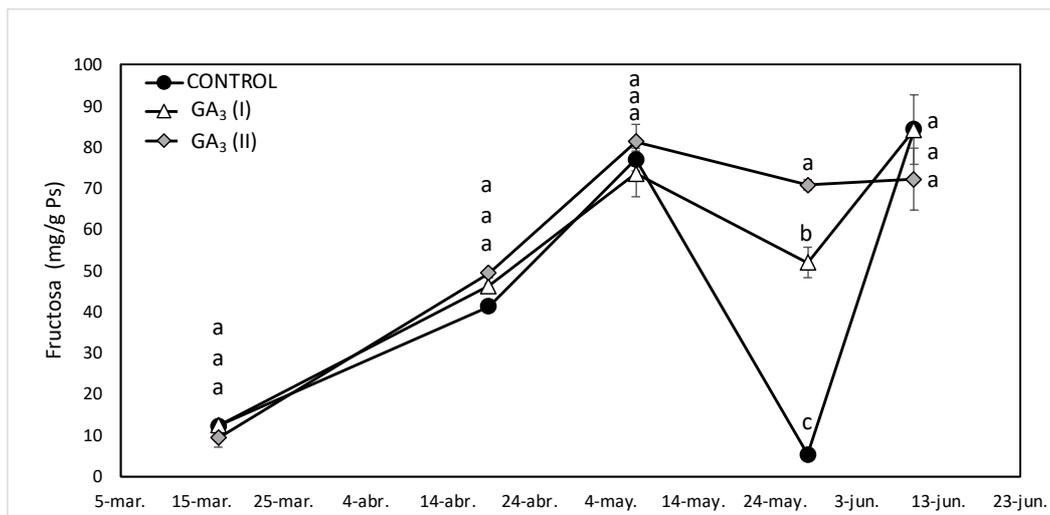


Fig. 12. Efecto de la aplicación de  $100 \text{ mg l}^{-1}$  de ácido giberélico durante la época de inducción ( $\text{GA}_3$  (I)) y diferenciación floral ( $\text{GA}_3$  (II)), en el contenido de fructosa en flores y frutos de aguacate 'Hass'. Cada valor es la media de 20 flores y 10 frutos. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ )

También en el caso de la manoheptulosa la concentración fue aumentando ligeramente en todos los tratamientos desde la preantesis hasta la antesis en la que mientras en el control se mantuvo prácticamente constante con valores de 6,2 mg/g ps por término medio, en los árboles tratados en inducción y diferenciación floral aumentó hasta alcanzar valores de 16,4 y 21,2 mg/g ps, respectivamente. Sin embargo, 20 días más tarde, al inicio del cuajado, los valores de manoheptulosa en los tratados fueron prácticamente nulos, mientras que en el control se mantuvieron en 5,3 mg/g ps (Fig. 13). Al igual que en el resto de los azúcares, la concentración aumentó bruscamente durante el crecimiento del ovario, hasta alcanzar valores máximos en todos los tratamientos de 40,6, 26,9 y 21,53 mg/g ps para los árboles tratados en inducción, diferenciación floral y control, respectivamente (Fig. 13).

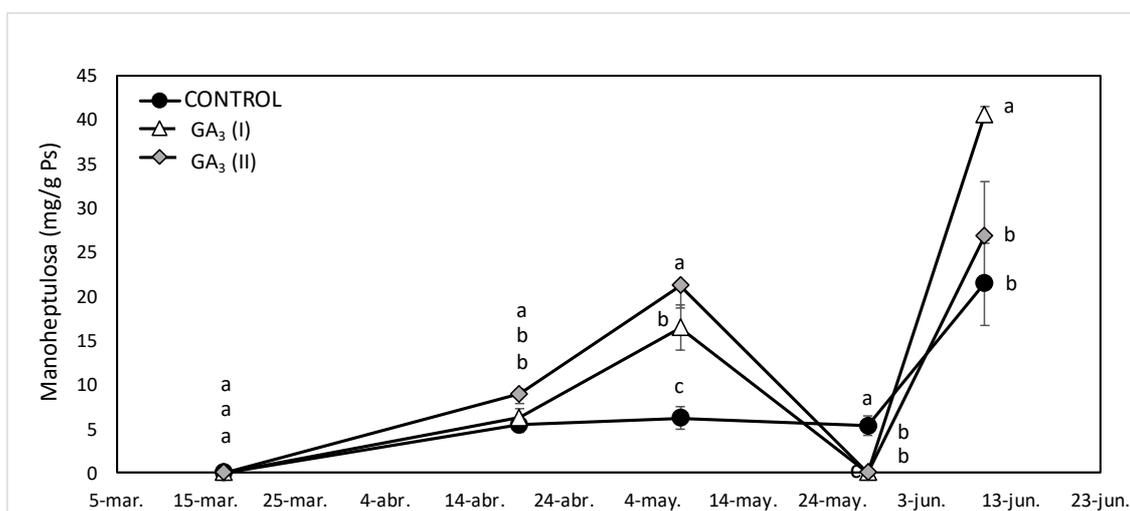


Fig. 13. Efecto de la aplicación de  $100 \text{ mg l}^{-1}$  de ácido giberélico durante la época de inducción ( $\text{GA}_3$  (I)) y diferenciación floral ( $\text{GA}_3$  (II)), en el contenido de manoheptulosa en flores y frutos de aguacate 'Hass'. Cada valor es la media de 20 flores y 10 frutos. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ )

Finalmente, la concentración de perseitol se mantuvo prácticamente estable y con valores similares en torno a los 13,9 mg/g ps en los tres tratamientos durante el periodo de floración, es decir, desde el momento de la preantesis hasta la antesis. Sin embargo, durante la fase inicial del cuajado el contenido de este azúcar varió significativamente con los tratamientos siendo de 24,5, 30,8 y 40,1 mg/g ps en los árboles control y tratados en diferenciación floral e inducción floral, respectivamente (Fig. 14). Quince días más tarde, durante el inicio del desarrollo del fruto, la tendencia creciente de la concentración se mantuvo, alcanzando valores máximos de 52,4, 47,2 y 42,6 mg/g Ps, para los árboles tratados en inducción y diferenciación floral y control, respectivamente (Fig. 14). En este caso, solamente los tratados en inducción floral difirieron significativamente de los árboles control.

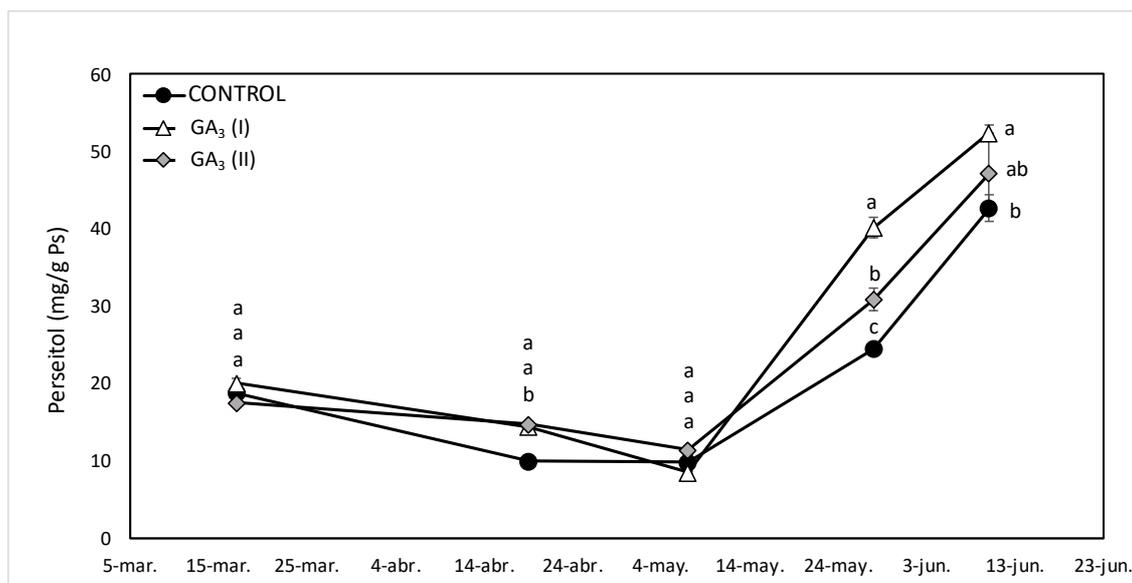


Fig. 14. Efecto de la aplicación de  $100 \text{ mg l}^{-1}$  de ácido giberélico durante la época de inducción ( $\text{GA}_3$  (I)) y diferenciación floral ( $\text{GA}_3$  (II)), en el contenido de perseitol en flores y frutos de aguacate 'Hass'. Cada valor es la media de 20 flores y 10 frutos. Las barras verticales indican el error estándar. Letras diferentes para una misma fecha indican diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ )

## 5. EFECTO DEL RAYADO DE RAMAS EN LA ABCISIÓN DE ÓRGANOS REPRODUCTIVOS

La respuesta del rayado de ramas en los árboles control sólo se pudo observar inicialmente. Tras la primera caída fisiológica de órganos reproductivos el número de frutos cuajados en los árboles rayados era significativamente mayor que en los árboles control 1 y 0,4, respectivamente. En cambio, tras la segunda caída fisiológica, el número de frutos de los árboles rayados y los controles se igualaron (Fig. 15A).

Paralelamente, la evaluación del crecimiento del fruto inicialmente no difería entre los árboles rayados y el control, sin embargo, al final de la fase exponencial de crecimiento del fruto, el diámetro era mayor en los árboles rayados que en los controles, 56,3 y 51,2, respectivamente (Fig. 15B).

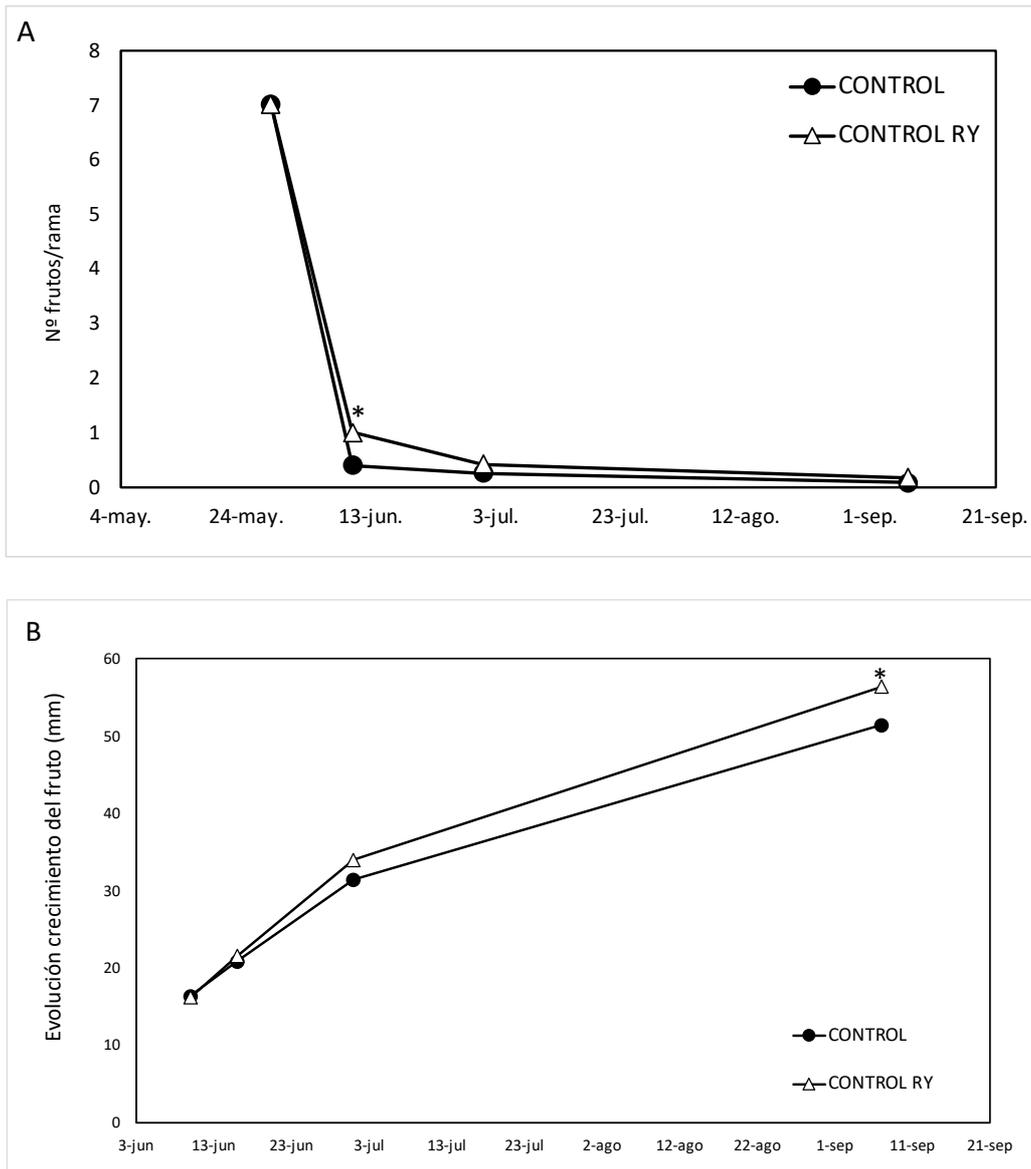


Fig. 15. Evolución del número de frutos por rama (A) y su crecimiento (B) en árboles de aguacate 'Hass' rayados 20 días después de la caída de pétalos. Cada valor es la media de 4 árboles y 5 ramas por árbol. Las barras verticales indican el error estándar. \*indica diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ )

El efecto combinando el tratamiento de  $GA_3$  en inducción floral y el rayado 20 días después de la caída de pétalos resultó de interés. A pesar de que al final de la segunda caída fisiológica de frutos el número de éstos en los árboles tratados en inducción floral no difirió del de los árboles control (Fig. 15A), la combinación del tratamiento con el rayado sí que incrementó el cuajado. Mientras los árboles tratados en inducción floral tenían 0,58 frutos por rama, por término medio, los árboles en los que se combinó el tratamiento con el rayado tenían 1,92 frutos (Fig. 16A).

Respecto a la evolución del crecimiento del fruto a lo largo de la fase de crecimiento exponencial (Fig. 16B), no se obtuvieron diferencias significativas con la combinación de los tratamientos.

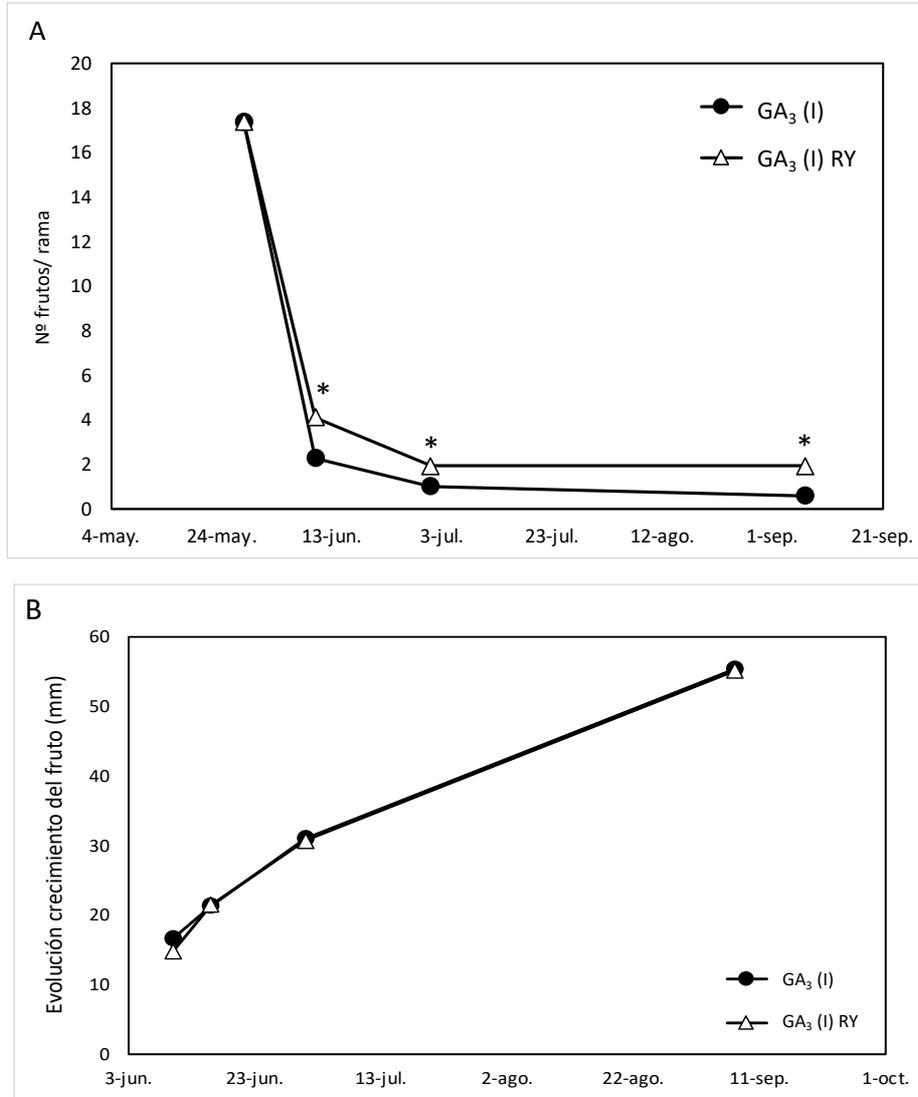


Fig. 16. Evolución del número de frutos por rama (A) y su crecimiento (B) en árboles de aguacate 'Hass' tratados con  $100 \text{ mg l}^{-1}$  de ácido giberélico durante la época de inducción floral ( $\text{GA}_3$  (I)) y árboles tratados en inducción floral y rayados 20 días después de la caída de pétalos ( $\text{GA}_3$  (I) RY). Cada valor es la media de 4 árboles y 5 ramas por árbol. Las barras verticales indican el error estándar. \* indica diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ )

## **DISCUSIÓN**



Uno de los principales problemas del aguacate es su dicogamia (Robinson y Savage, 1926), es decir, pese a que sus flores son hermafroditas, la fecundación se ve dificultada porque las fases sexuales de la flor no coinciden en el tiempo. Además, la antesis tiene una duración de dos días, lo que implica que la capacidad reproductiva de esta especie sea extremadamente baja. Sin embargo, esto no explica que de su elevada intensidad de floración (más de un millón de flores producidas en un mismo árbol) sólo consigan cuajar entre el 0,1 y el 0,001% de las flores.

Para que el cuajado se produzca son necesarios tres requisitos: la existencia de yemas florales, un régimen de temperaturas adecuadas durante la antesis y, con ellas, una buena polinización, y un aporte adecuado de fotoasimilados cuando el ovario inicia el desarrollo (Agustí *et al.*, 2008). Una de las razones de la baja productividad de esta especie es la marcada competencia durante la fase reproductiva entre flores en desarrollo, frutos recién cuajados y desarrollo vegetativo, hasta agotar los recursos disponibles para la flor y el fruto que inicia el desarrollo; cuando ello ocurre se produce su abscisión, ya que se requiere una gran cantidad de energía para satisfacer el cuajado del ovario.

En el aguacate, durante la floración, se produce la abscisión de flores polinizadas o no, pero no fecundadas, debida al aborto del embrión que no puede iniciar su desarrollo (Dixon y Share, 2002). Aproximadamente un mes más tarde ocurre la primera caída fisiológica de frutos procedentes, por tanto, de flores fecundadas; la competencia por carbohidratos entre el número tan elevado de los que inician su desarrollo puede ser el motivo de esta abscisión (Gazit y Degani, 2002). La reducción de la floración con el fin de reducir dicha competencia puede ser una vía indirecta para aumentar la producción de esta especie. Numerosos estudios han buscado métodos para reducir el exceso de floración en el aguacate, algunos incluyen el uso de reguladores de desarrollo y otros un ajuste en la nutrición. Estas técnicas pueden ayudar a reducir el exceso de floración y permitir un equilibrio adecuado entre la producción de flores y frutos.

En nuestro estudio, la aplicación de GA<sub>3</sub> a una concentración de 100 mg l<sup>-1</sup> en la época de inducción o diferenciación floral, redujo significativamente la brotación y, por lo tanto, la intensidad de floración. Estos resultados coinciden con los de otras especies leñosas como el níspero japonés (Reig *et al.*, 2011), el naranjo dulce (Guardiola *et al.* 1982), el mango (Núñez-Elisea y Davenport, 1991), el cerezo (Lenahan *et al.*, 2006) y el ciruelo (González-Rossia *et al.*, 2006). Paralelamente a ello, nuestros resultados también indican una reducción del número de flores por inflorescencia a causa de los tratamientos; el número de flores del brazo terminal y el

número de brazos por inflorescencia fue menor en los árboles tratados, siendo dicha diferencia más acusada cuando se efectuaron los tratamientos en la época de diferenciación floral.

En el aguacate, como en otras especies perennifolias, las bajas temperaturas son inductoras de la floración. Así la expresión del gen *PaFT* tiene su máxima expresión durante el mes de noviembre en las condiciones de la Cuenca Mediterránea (Ziv *et al.*, 2014) y mayo-julio en el HS (Ahsan *et al.* 2023), de un modo similar a como ocurre en los cítricos (Muñoz-Fambuena *et al.*, 2011). Cuando el GA<sub>3</sub> se aplica en esta época reprime la expresión de dicho gen y, en consecuencia, reduce la floración (Muñoz-Fambuena *et al.*, 2012). En los cítricos, la aplicación en la época de diferenciación floral también reduce significativamente la floración (Guardiola *et al.*, 1982), y en el mango, el contenido endógeno de GA<sub>3</sub> está inversamente relacionado con la floración (Das *et al.*, 2019). En el aguacate, nuestros resultados indican una acción similar de la hormona, pero más intensa cuando se aplica durante la diferenciación floral.

Nuestro estudio indica, también, que en el aguacate el efecto del GA<sub>3</sub> sobre la intensidad de floración es consecuencia de su acción sobre la expresión relativa de los genes involucrados en la inducción y diferenciación floral. Cuando los tratamientos se efectuaron en la época de inducción floral, la floración del brazo terminal fue reducida en un 18%, pero cuando se llevaron a cabo al inicio de la diferenciación floral lo fue en un 59%, lo que indica una fuerte sensibilidad de la yema a esta hormona en el momento del desborre, al igual que ocurre en otras especies leñosas (Guardiola *et al.*, 1982). En los árboles tratados en la época de inducción floral la expresión relativa del gen *FT* en sus hojas es menor que en los árboles control, al mismo tiempo que se registra una menor expresión del gen *PaLFY*, al igual que ocurre en las yemas de los árboles tratados durante la diferenciación floral, aunque en mayor intensidad en este último caso. Dado que el gen *FLY* regula *AP1*, induciendo su expresión, resulta lógico que la expresión de *PaAP1* no fuera alterada por el tratamiento, con independencia de la época de aplicación, y sin expresión de *AP1* en el meristemo no hay floración, lo que indica la tendencia de estas yemas a desarrollarse vegetativamente y no floralmente. De hecho, la expresión de *PaAP1* no fue alterada por el tratamiento, con independencia de la época de aplicación. Debe destacarse que los tratamientos efectuados en esta última época no modificaron el tipo de inflorescencia, pero sí su morfología que vio reducido significativamente el número de brazos por panícula.

Inicialmente, el número de frutos cuajados, respecto del control, fue mayor en los árboles tratados, independientemente de la época, si bien fue superior en los tratados en la inducción floral. Este resultado es coherente con el contenido en sacarosa de las flores en el momento de la antesis; el transporte de azúcares a las flores en los árboles tratados, tanto de sacarosa como de perseitol, fue significativamente mayor, de un modo similar a como ocurre en las flores que permanecen en el árbol en comparación con las que abscinden (D'Asaro *et al.*, 2021). Sin

embargo, el contenido en azúcares de consumo, glucosa y fructosa, no difirió entre flores de árboles control y tratados con GA<sub>3</sub>, independientemente de la época de aplicación, lo que indica que las flores que se mantienen en el árbol son capaces de utilizarlos para su desarrollo, independientemente del número de las presentes en el árbol. Solamente la manoheptulosa presenta una concentración mayor en las flores de los árboles tratados, pero el papel de este azúcar, y del resto de los C7, no es bien conocido en el aguacate (D'Asaro *et al.*, 2021); solamente en el cv. 'Hass' se ha demostrado que contribuyen, en gran medida, a almacenar y translocar carbohidratos (Liu *et al.*, 1999; Tesfay *et al.*, 2012; Pedreschi *et al.*, 2019). De acuerdo con ello, la competencia por carbohidratos no sería un factor determinante del cuajado del ovario, como ocurre con las flores de inflorescencias indeterminadas que, aun teniendo una mayor concentración de carbohidratos, caen en mayor proporción que las de inflorescencias determinadas (D'Asaro *et al.*, 2021). Sin embargo, se ha sugerido que esta mayor caída de las flores de inflorescencias indeterminadas es consecuencia de la competencia entre las flores y el crecimiento vegetativo de su yema apical (Gazit y Degani, 2002), que se desarrollan al mismo tiempo. Por otra parte, se ha demostrado que la eliminación del brote vegetativo promueve un mayor cuajado (Cutting y Bower, 1990) y la exposición de las hojas a una atmósfera rica en de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> (Whiley y Schaffer, 1993) también.

De acuerdo con ello, las flores que caen son las que poseen una menor concentración de carbohidratos (D'Asaro *et al.*, 2021), y aunque para un árbol completo la abscisión de flores se correlaciona positivamente con el crecimiento vegetativo, no hay pruebas sólidas, para una inflorescencia dada, de que el número de flores que cuajan dependa de su competencia con el crecimiento vegetativo de la yema terminal. Debe señalarse, no obstante, que no se ha estudiado qué proporción de flores fecundadas son las que caen.

Tras la antesis, esto es, cuando el fruto inicia su desarrollo, las diferencias en la concentración de sacarosa desaparecen y la de los azúcares de consumo es mayor en los frutos procedentes de árboles a los que se les redujo la floración, y tanto más cuanto más eficaz fue este tratamiento, y este efecto sí parece tener relación con el cuajado. Así, los frutos de los árboles a los que se les redujo la floración crecen a mayor velocidad y cuajan en mayor proporción, como ocurre en otras especies (Agustí *et al.*, 1982; Guardiola *et al.*, 1984; Orr *et al.*, 2023)

Una prueba contundente de la necesidad de carbohidratos para garantizar el cuajado lo constituye el rayado de ramas. Los frutos situados en éstas crecen a mayor velocidad que los de las ramas sin rayar y el número de los que inician el desarrollo y permanecen en el árbol es mayor, como ocurre en otras especies frutícolas (Furr *et al.*, 1945; Agustí *et al.*, 1997; Agustí *et al.*, 2005; y ver la revisión de Goren *et al.*, 2004). En los cítricos, el rayado de ramas durante la caída fisiológica previene al fruto de ésta al inducir el flujo de AIA desde el fruto y su transporte

a la zona de abscisión, protegiéndola, inhibiendo su sensibilización y evitando su activación, de manera similar a la "dominancia primigenia" propuesta para el manzano por Bangerth (1989; 2000). Esto coincide con el aumento de la expresión de los genes *CcPIN1* y *CcCYCA1.1*, es decir, con un incremento del transporte polar de la auxina desde el fruto hasta la zona de abscisión (AZ-C) manteniendo la funcionalidad de los haces vasculares y la división celular de éste, respectivamente (Mesejo *et al.*, 2022). Ello permite que los carbohidratos puedan seguir llegando al fruto para seguir en su crecimiento, como lo demuestra el hecho de que su expresión 10 días después del anillado correlacione positivamente con el crecimiento de los ovarios y negativamente con el porcentaje de los frutos caídos (Mesejo *et al.*, 2022). De acuerdo con ello, la combinación del tratamiento con GA<sub>3</sub> en la época de inducción/diferenciación floral y el rayado de ramas 20 días después de la caída de pétalos, consigue aumentar el número de frutos que permanecen en el árbol en relación con los árboles control sin tratar; la reducción de la floración aumentó el número de frutos cuajados inicialmente, por una parte, y el rayado redujo la abscisión de los mismos, por otra. Bajo este punto de vista, la abscisión de frutos durante la fase de crecimiento exponencial debe estar directamente ligada a una deficiente aportación de carbohidratos a los frutos.

En resumen, la reducción de la floración con la aplicación GA<sub>3</sub> en la época de reposo invernal está relacionada con la represión de los genes *PaFT* y *PaLFY*, y reduce la competencia por carbohidratos entre flores, lo que aumenta el número de las que cuajan. La combinación de este tratamiento con el rayado de ramas, a los 20 días de la caída de pétalos, consigue reducir significativamente la primera caída fisiológica de frutos en el aguacate.

**CONCLUSIÓN**



## CONCLUSIÓN

La reducción de la floración con la aplicación GA<sub>3</sub> en la época de reposo invernal está relacionada con la represión de los genes *PaFT* y *PaLFY*, y reduce la competencia por carbohidratos entre flores, lo que aumenta el número de las que cuajan.



## **BIBLIOGRAFÍA**



Agustí, M., Almela, V., Juan, M., Mesejo, C., Martínez Fuentes, A., y Reig, C. (2008). Preharvest physiological disorders in citrus fruits and their control. *Phytoma España (España)*.

Agusti, M., Andreu, I., Juan, M., Almela, V., y Zacarias, L. (1998). Effects of ringing branches on fruit size and maturity of peach and nectarine cultivars. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73, 537-540.

Agustí, M., García-Marí, F., y Guardiola, J. L. (1982). The influence of flowering intensity on the shedding of reproductive structures in sweet orange. *Scientia Horticulturae*, 17, 343-352.

Agustí, M., Gariglio, N., Juan, M., Almela, V., Mesejo, C. y Martínez-Fuentes, A. (2005). Effect of Branch scoring on fruit development in loquat. *Scientia Horticulturae*, 80, 370-374.

Agustí, M., Juan, M., Almela, V., Andreu, I. y Speroni, C. 1997. Estímulo del desarrollo de los frutos de hueso. Generalitat Valenciana. Serie Divulgació Tècnica., 38. 78 pp.

Agustí, M., Mesejo, C., Muñoz-Fambuena, N., Vera-Sirera, F., de Lucas, M., Martínez-Fuentes, A., Reig, C., Iglesias, D.J, Primo-Millo, E. y Blázquez, M. A. (2020). Fruit-dependent epigenetic regulation of flowering in Citrus. *New Phytologist*, 225, 376-384.

Ahsan, M. U., Barbier, F., Hayward, A., Powell, R., Hofman, H., Parfitt, S. C., Wilkie, J., Beveridge, C.A. y Mitter, N. (2023). Molecular Cues for Phenological Events in the Flowering Cycle in Avocado. *Plants*, 12, 2304.

Bangerth, F. (1989). Dominance among fruits/sinks and the search for a correlative signal. *Physiologia Plantarum*, 76, 608-614.

Bangerth, F. (2000). Abscission and thinning of young fruit and thier regulation by plant hormones and bioregulators. *Plant Growth Regulation*, 31, 43-59.

Bekey, R. (1989). To bee or not to be. Pollination of avocados. *California Grower*, 13, 30-32.

Biran, D. (1979). Fruitlet abscission and spring growth retardation-their influence on avocado productivity. *M. Sc.(Agric.) Thesis. Jerusalem, Israel: Hebrew University of Jerusalem (English summary)*, 1-2.

Bower, J. P., y Cutting, J. G. M. (1990). THE EFFECT OF SELECTIVE PRUNING ON YIELD AND FRUIT QUALITY IN 'HASS' AVOCADO. *Tropical Fruits, XXIII IHC 296*, 55-58.

Cameron, S. H., Mueller, R. T., y Wallace, A. (1952). Nutrient composition and seasonal losses of avocado trees. *California Avocado Society Yearbook*, 36, 201-209.

Chandler, W. H. (1958). *Evergreen orchards*. 2nd edn. Lea and Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, pp. 205-228

D'Asaro, A., Reig, C., Martínez-Fuentes, A., Mesejo, C., Farina, V., y Agusti, M. (2021). Hormonal and carbohydrate control of fruit set in avocado 'Lamb Hass'. A question of the type of inflorescence?. *Scientia Horticulturae*, 282, 110046.

Daie, J. (1985). Carbohydrate Partitioning and Metabolism in Crops!. *Horticultural Reviews*, 69-108.

Das, P. C., Khan, M. J., Rahman, M. S., Majumder, S., y Islam, M. N. (2019). Comparison of the physico-chemical and functional properties of mango kernel flour with wheat flour and development of mango kernel flour based composite cakes. *NFS journal*, 17, 1-7.

Dey, P. M., y Dixon, R. A. (1985). *Biochemistry of storage carbohydrates in green plants*. Academic press.

Dixon, J., y Sher, D. (2002). Pollination of avocados. *NZ Avocado Growers Association Annual Research Report*, 2, 1-9.

Eshghi, S., Tafazoli, E., Dokhani, S., Rahemi, M., y Emam, Y. (2007). Changes in carbohydrate contents in shoot tips, leaves and roots of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) during flower-bud differentiation. *Scientia Horticulturae*, 113, 255-260.

Evans, L. J., Goodwin, R. M., y McBrydie, H. M. (2010). Factors affecting Hass avocado (*Persea americana*) fruit set in New Zealand. *New Zealand Plant Protection*, 63, 214-218.

Finazzo, S. F., Davenport, T. L., y Schaffer, B. (1994). Partitioning of photoassimilates in avocado (*Persea americana* Mill.) during flowering and fruit set. *Tree Physiology*, 14, 153-164.

Furr, J.R., Reece, P.C. y Henciar, G. (1945). Nitrogen absorption on ringed orange trees in sand culture. *Proceeding of the National Society for Horticultural Science*, 46, 51-54.

Gariglio, N., Castillo, A., Juan, M., Almela, V. y Agustí, M. (2002). *El níspero japonés. Técnicas para mejorar la calidad del fruto*. Generalitat Valenciana. Sèrie Divulgació Tècnica nº 52, Valencia, España, 61 pp.

Garner, L. C., y Lovatt, C. J. (2008). The relationship between flower and fruit abscission and alternate bearing of 'Hass' avocado. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 133, 3-10.

Gazit, S., y Degani, C. (2002). Reproductive biology. In *The avocado: botany, production and uses* (pp. 101-133). Wallingford UK: CABI Publishing.

González-Rossia, D., Juan, M., Reig, C., y Agusti, M. (2006). The inhibition of flowering by means of gibberellic acid application reduces the cost of hand thinning in Japanese plums (*Prunus salicina* Lindl.). *Scientia horticulturae*, 110, 319-32

Goren, R., Huberman, M., y Goldschmidt, E. E. (2004). Girdling: physiological and horticultural aspects. *Horticultural Reviews*, 30, 1-36.

Guardiola, J. L., García-Marí, F., y Agustí, M. (1984). Competition and fruit set in the Washington navel orange. *Physiologia plantarum*, 62, 297-302.

Guardiola, J. L., Monerri, C., y Agusti, M. (1982). The inhibitory effect of gibberellic acid on flowering in Citrus. *Physiologia Plantarum*, 55, 136-142.

Lahav, E., y Zamet, D. (1975). Flower, fruitlet and fruit abscission in avocado trees (in Hebrew). *Alon Hanotea*, 29, 556-562.

Lahav, E., y Zamet, D. (1999). Flowers, fruitlets and fruit drop in avocado trees. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5, 95-100.

Lenahan, O. M., Whiting, M. D., y Elfving, D. C. (2006). Gibberellic acid inhibits floral bud induction and improves Bing' sweet cherry fruit quality. *HortScience*, 41, 654-659.

Liu, X., Robinson, P. W., Madore, M. A., Witney, G. W., y Arpaia, M. L. (1999). Hass avocado carbohydrate fluctuations. I. Growth and phenology. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 124, 671-675.

Luckwill, L. C. (1970). The control of growth and fruitfulness of apple trees. *Physiology of tree crops*, 237-254.

Martínez-Fuentes, A., Mesejo, C., Agustí, M., y Reig, C. (2015). Toward a more efficient isolation of total RNA from loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) tissues. *Fruits*, 70, 47-51.

McArtney, S. J., y Li, S. H. (1998). Selective Inhibition of Flowering on Brae burn 'Apple Trees with Gibberellins. *HortScience*, 33, 699-700.

Mesejo, C., Martínez-Fuentes, A., Reig, C., y Agustí, M. (2022). Ringing branches reduces fruitlet abscission by promoting PIN1 expression in 'Orri' mandarin. *Scientia Horticulturae*, 306, 111451.

Munoz-Fambuena, N., Mesejo, C., Carmen González-Mas, M., Primo-Millo, E., Agustí, M., y Iglesias, D. J. (2011). Fruit regulates seasonal expression of flowering genes in alternate-bearing 'Moncada' mandarin. *Annals of Botany*, 108, 511-519

Muñoz-Fambuena, N., Mesejo, C., González-Mas, M. C., Iglesias, D. J., Primo-Millo, E., y Agustí, M. (2012). Gibberellic acid reduces flowering intensity in sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] by repressing CiFT gene expression. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31, 529-536.

Munoz-Fambuena, N., Mesejo, C., Iglesias, D. J., Reig, C., Martínez-Fuentes, A., González-Mas, M. C., Primo-Millo, E. y Agustí, M. (2013). La alternancia de cosechas en los cítricos. Control genético y técnicas para reducirla. *Levante Agrícola*, 419, 322-328.

Monselise, S. P. (1964). Chemical inhibition and promotion of citrus flower bud induction. In *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*. 84, 141-146.

Nunez-Elisea, R., y Davenport, T. L. (1991). Effect of duration of low temperature treatment on flowering of containerized 'Tommy Atkins' mango. In *Proceedings of the Plant Growth Regulator Society of America (USA)*.

Pedreschi, R., Uarrota, V., Fuentealba, C., Alvaro, J. E., Olmedo, P., Defilippi, B. G., Meneses, C. y Campos-Vargas, R. (2019). Primary metabolism in avocado fruit. *Frontiers in Plant Science*, 10, 795.

Peterson, P. A. (1956). Flowering types in the avocado with relation to fruit production. *California Avocado Society Yearbook*, 40, 174-179.

Reece, P. C. (1942). Differentiation of avocado blossom buds in Florida. *Botanical Gazette*, 104, 323-328.

Reig, C., Farina, V., Volpe, G., Mesejo, C., Martínez-Fuentes, A., Barone, F., Calabrese, F. y Agustí, M. (2011). Gibberellic acid and flower bud development in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.). *Scientia Horticulturae*, 129, 27-31.

Robinson, T. R., y Savage, E. M. (1926). Pollination of the avocado. *United States Department of Agriculture Circular*, 387, 1-16.

Orr, R., Ibell, P. T., Wilkie, J., Wright, C., y Bally, I. S. (2023). Competition regulates mango fruiting above a floral density threshold. *Scientia Horticulturae*, 321, 112241.

Scholefield, P. B., Sedgley, M., y Alexander, D. M. (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. (1944). The avocado inflorescence. *California Avocado Society Yearbook*, 28, 39-40.

Slabbert, M. J. (1981). Flower and fruit drop. *South African Avocado Growers Association Yearbook*, 4, 89-91.

Stern, R. A., Rozen, A., Eshed, R., Zviran, T., Sisai, I., Sherman, A., Irihimovitch, V. y Sapir, G. (2021). Bumblebees (*Bombus terrestris*) Improve 'Hass' Avocado (*Persea americana*) Pollination. *Plants (Basel)*, 10, 1372.

Stout, A. B. (1933). *The pollination of avocados*. University of Florida Agricultural Experiment Station.

Tesfay, S. Z., Bertling, I., y Bower, J. P. (2012). D-mannoheptulose and perseitol in 'Hass' avocado: Metabolism in seed and mesocarp tissue. *South African Journal of Botany*, 79, 159-165.

Tromp, J. (2000). Lower-bud formation in pome fruits as affected by fruit thinning. *Plant Growth Regulation*, 31, 27-34.

Turnbull, C. G. N., Anderson, K. L., y Winston, E. C. (1996). Influence of gibberellin treatment on flowering and fruiting patterns in mango. *Australian journal of experimental agriculture*, 36, 603-611.

Whiley, A. W., y Schaffer, B. (1993). 14C-photosynthesis partitioning in avocado trees as influenced by shoot development. *HortScience*, 28, 850-852.

Whiley, A.W., Schaffer, B. y Wolstenholme, B.N. (2007). *El Palto. Botánica, producción y usos*. Ediciones Universitarias de Valparaíso. Chile.

Ziv, D., Zviran, T., Zezak, O., Samach, A., y Irihimovitch, V. (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, e110613.