

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

IDENTIFICACIÓN DE CULTIVARES POLINIZADORES PARA
EL MANZANO 'AGUA NUEVA II' (*Malus domestica* Borkh).



DIRECCION ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

TOLÍN CRUZ HERNÁNDEZ

Bib 90135

ABRIL DE 1999

Chapingo, Estado de México

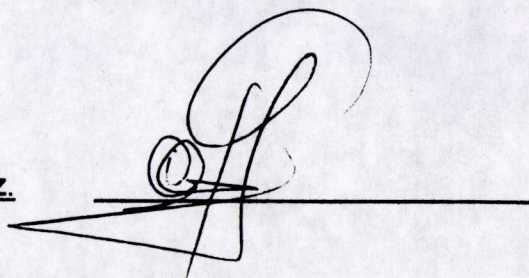


IDENTIFICACIÓN DE CULTIVARES POLINIZADORES PARA EL MANZANO 'AGUA NUEVA II' (*Malus domestica* Borkh).

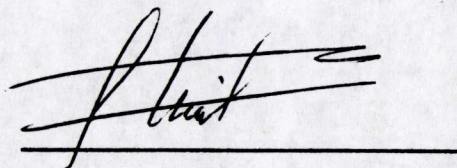
Tesis realizada por el Ing. Tolín Cruz Hernández bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA.

DIRECTOR: M. C. José Pablo Cruz Hernández.

A stylized, handwritten signature in black ink, featuring a large, looping 'P' and 'C' that cross each other, with a horizontal line underneath.

ASESOR: DR. Edilberto Avitia García.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Edilberto', with a horizontal line underneath.

34215

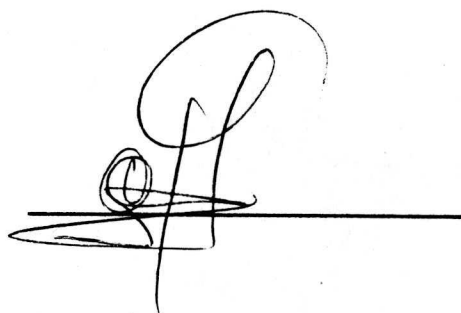
ASESOR: DRA. María Teresa Colinas de León.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'María Teresa Colinas de León', with a horizontal line underneath.

IDENTIFICACIÓN DE CULTIVARES POLINIZADORES PARA EL MANZANO 'AGUA NUEVA II' (*Malus domestica* Borkh).

El jurado que revisó y aprobó el examen de grado del Ing. Tolín Cruz Hernández autor de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura estuvo constituido por:

PRESIDENTE: M. C. José Pablo Cruz Hernández.



ASESOR: DR. Edilberto Avitia García.



ASESOR: DRA. María Teresa Colinas de León.



DEDICATORIA

A mis padres: Luis y Lucrecia con Mucho respeto.

A mi esposa María Guadalupe y mis hijas Naria y Mahé con mucho amor y orgullo, ya que son la razón más grande que me alienta a seguir siempre adelante.

A todos mis hermanos y hermanas con la certidumbre de que siempre existirá el apoyo y comprensión.

A todos mis familiares y amigos con mucho afecto.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, por brindarme un hogar durante los dos años de mis estudios de postgrado y los conocimientos que me han formado como profesional y preparado para la resolución de los problemas del campo mexicano.

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACyT), por brindarme su apoyo económico por medio de su beca durante la realización de mis estudios de Maestría.

A todos los profesores de la Universidad Autónoma Chapingo que contribuyeron en mi formación durante mi estancia en la Maestría; en especial al M. C. Pablo Cruz H, asesor de siempre y hombre dedicado a la ciencia aplicada.

Al Centro Regional del Anáhuac por haberme brindado la posibilidad de realizar mis estudios de maestría y seguirme dando oportunidad de aplicar lo que he aprendido en beneficio de los campesinos de México.

Al Colegio de Postgraduados (CP), por brindarme su laboratorio de Citología para la realización del trabajo de observaciones microscópicas.

A mis tíos Cayetano, Isidro y Sabino Cruz H. Por haberme facilitado sus huertos para la realización del presente trabajo.

DATOS BIOGRÁFICOS

Estudios de licenciatura y obtención de título de Ingeniero Agrónomo especialista en Zonas Áridas en la Universidad Autónoma Chapingo, entre 1977 y 1981.

Subdirector de Servicios Asistenciales de la Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo México, 1983-1985

Profesor de la asignatura Agricultura de Zonas Áridas en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, 1984.

Coordinador de viajes de estudio a Veracruz, Puebla, Tabasco, Yucatán, Zacatecas, San Luis Potosí, UACH, Chapingo, México, 1986-1989.

Profesor de Fruticultura, Introducción a la Agronomía, Sistemas de Producción Agrícola, Cultivos Básicos y Agricultura regional en los Departamentos de Preparatoria Agrícola y Parasitología Agrícola de la UACH, Chapingo, México, 1986-1989.

Campamento de trabajo a la Sierra Norte de Puebla, DETCU-UACH, Chapingo, México, 1986.

Capacitación Frutícola a Cooperativas, Ejidos y grupos de Campesinos en el estado de Tlaxcala. , DETCU-UACH, Chapingo, México, 1989-1992.

Estudio de comportamiento de durazno en el estado de Tlaxcala, DETCU-UACH, Chapingo, México, 1992-1993.

Profesor de tiempo completo del Centro Regional Universitario del Anáhuac, DETCU-UACH, Chapingo, México, 1983-1999.

RESUMEN

IDENTIFICACIÓN DE CULTIVARES POLINIZADORES PARA EL MANZANO 'AGUA NUEVA II' (*Malus domestica* Borkh).

TOLÍN CRUZ HERNÁNDEZ

Abril de 1999

(Bajo la dirección de M. C. J. Pablo Cruz Hernández).

El manzano 'Agua Nueva II', originado por mutación espontánea del cultivar Golden Delicious, presenta deficiencias en el amarre de frutos. Flores de éste cultivar fueron polinizadas manualmente con polen de 'Anna', 'Elba', 'Maayan' y de 'Agua Nueva II' en 1997 y se compararon con flores de polinización libre. Los efectos se evaluaron mediante la observación del desarrollo del tubo polínico y por las características de los frutos formados.

Los resultados indicaron que 'Anna', 'Elba' y 'Maayan' son compatibles con 'Agua Nueva II', al presentar entre 10 y 20 % de amarre de frutos y desarrollo de los tubos polínicos hasta la cavidad ovárica. En el cultivar Agua Nueva II se observó una respuesta de auto-incompatibilidad al presentar 0.16 % de amarre de frutos después de la polinización y al inhibirse el desarrollo de los tubos polínicos dentro del estigma.

PALABRAS CLAVE: Autoincompatibilidad, Polinización, Compatibilidad, Tubos polínicos.

ABSTRACT

POLLINATION REQUIREMENTS OF APPLE 'AGUA NUEVA II' (*Malus domestica* Borkh).

TOLÍN CRUZ HERNÁNDEZ

April 1998

(Under the direction of M. C. J. Pablo Cruz Hernández).

'Agua Nueva II', a 'Golden Delicious' mutant cultivar with problems in fruit set, was hand pollinated with pollen of 'Anna', 'Elba' and 'Maayan' in 1997. Beside this, the flowers of 'Agua Nueva II', were hand self-pollinated. The pollination was evaluated with pollen tube growth, fruit set, fruit weight and seed count.

Research in hand pollinations of 'Agua Nueva II' indicated that the 'Anna', 'Elba' and 'Maayan' are compatible with him. Fruit set on 'Agua Nueva II' with these pollinizers was 10-20 %. This pollinations generated fruit set and pollen tubes reached the base of the style. Self-pollinations in 'Agua Nueva II', has shown that this cultivar can be self-incompatible, because they was self-unfruitful and with self-pollen shown pollen tube growth inhibition within style.

INDEX WORDS: Self-incompatibility, Pollination, Compatibility, Pollen tubes.

ÍNDICE

Página

RESUMEN	vi
ABSTRACT	vī
ÍNDICE	ix
LISTA DE CUADROS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
1. SITUACIÓN DEL MANZANO EN EL MUNDO	3
2. SITUACIÓN DEL MANZANO EN MÉXICO	5
3. PERSPECTIVAS DE LA PRODUCCIÓN DE MANZANA	6
4. PRODUCCIÓN DE MANZANA EN LAS ZONAS SUBTROPICALES ..	8
5. SÍNTOMAS DE FALTA DE HORAS FRÍO EN CADUCIFOLIOS	8
6. ESTIMULACIÓN DE LA BROTAÇÃO EN ZONAS SUBTROPICALES	9
7. CULTIVARES DE MANZANO	10
8. BIOLOGÍA FLORAL	12
8.1. Floración	12
8.2. Polinización	13
8.3. Agentes Polinizantes	14
8.4. Polinizadores	15
8.5. Características del Polen	16
8.6. Fase Progámica	16
8.7. Receptibilidad del Estigma	18
8.8. Características de los Óvulos	19

8.9. Periodo de Polinización Efectiva	19
8.10. Incompatibilidad	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	23
1. LOCALIZACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LAS LOCALIDADES ..	23
2. MATERIAL VEGETAL	24
2.1. Colecta de Polen	24
2.2. Periodos de Floración	24
3. POLINIZACIÓN	25
3.1. Experimento 1	25
3.1.1. Efecto sobre el árbol con ramo	27
3.1.2. Efecto sobre árboles laterales	27
3.2. Experimento 2	28
3.2.1. Aplicación de los tratamientos	29
3.2.2. Evaluación de los tratamientos	30
3.3. Experimento 3	31
3.3.1. Aplicación de los tratamientos	31
3.3.2. Evaluación de los tratamientos	32
4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	33
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
1. PERIODOS DE BROTACIÓN FLORAL	36
1.1. Tetela de Ocampo, Puebla	36
1.2. Campo Experimental San Martín	37
2. EXPERIMENTO 1. POLINIZACIÓN CON RAMOS	38
2.1. Efecto Sobre los Árboles Laterales	41
3. EXPERIMENTO 2. POLINIZACIÓN MANUAL EN TETELA DE OCAMPO	45
3.1. Germinación de los Granos de Polen	45
3.2. Efecto Sobre el Amarre de Frutos y Sus Características	46

4. EXPERIMENTO 3. POLINIZACIÓN MANUAL EN EL CAMPO	
SAN MARTÍN	49
4.1. Efecto Sobre el Amarre de Frutos y Sus Características	49
4.2. Desarrollo del Tubo Polínico	52
5. COMPARACIÓN ENTRE LAS DOS LOCALIDADES	54
6. CORRELACIÓN ENTRE LAS SEMILLAS Y EL TAMAÑO DE FRUTO	56
V. CONCLUSIONES	58
VI. LITERATURA CITADA	59

LISTA DE CUADROS

Página

Cuadro 1. Efecto de los tratamientos de polinización con ramos de los cultivares de manzano (<i>Malus domestica</i> Borkh) Anna y Elba sobre la producción de fruta y sus características de 'Agua Nueva II' en Tetela de Ocampo, Puebla.	39
Cuadro 2. Efecto de la distancia existente entre los árboles laterales y el árbol con ramos de 'Anna' y 'Elba' sobre el amarre de frutos y sus características de 'Agua Nueva II', en Tetela de Ocampo, Puebla.	41
Cuadro 3. Efecto de la fuente de polen sobre la producción de fruto y sus características del cultivar de manzano (<i>Malus domestica</i> Borkh) Agua Nueva II, bajo polinización manual en Tetela de Ocampo, Puebla.	47
Cuadro 4. Efecto de la fuente de polen sobre la producción de fruto y sus características del cultivar de manzano (<i>Malus domestica</i> Borkh) Agua Nueva II, bajo polinización manual en el Campo San Martín, Chapingo Estado de México.	51
Cuadro 5. Efecto de la localidad sobre la producción de fruto y sus características del cultivar de manzano (<i>Malus domestica</i> Borkh) Agua Nueva II bajo polinización manual y polinización libre, durante 1997.	55

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Formación de un ramo de flores de manzano y ubicación del mismo en el árbol. A, Colocación del ramo con el bote de agua en el centro del árbol; B, Rama de manzano en floración; C, Ramo de flores de manzano dentro de un bote con agua.	26
Figura 2. Ejemplo de la distribución de los árboles seleccionados en la aplicación de los tratamientos de polinización con ramos floreados de manzano. C, árbol al que se le colocó el ramo floreado (árbol central); 1, 2, 3, árboles laterales.	28
Figura 3. Periodos de floración de tres cultivares de manzano (<i>Malus domestica</i> Borkh) en la población de Tetela de Ocampo, Puebla, durante el invierno de 1996-1997.	36
Figura 4. Periodos de floración de tres cultivares de manzano (<i>Malus domestica</i> Borkh) en el Campo Experimental San Martín, Texcoco, Estado de México, durante el invierno de 1996-1997.	37
Figura 5. Efecto del distanciamiento entre los árboles laterales y el árbol con ramas floreadas del cultivar Anna, sobre el amarre de frutos del cultivar Agua Nueva II (<i>Malus domestica</i> Borkh) en tres distancias entre árboles, en Tetela de Ocampo, Puebla. Primero, árbol más próximo al árbol central; Tercero, árbol más lejano del árbol central.	42
Figura 6. Efecto del distanciamiento entre los árboles laterales y el árbol con ramas floreadas del cultivar Elba, sobre el amarre de frutos del cultivar Agua Nueva II (<i>Malus domestica</i> Borkh) en tres distancias entre árboles, en Tetela de Ocampo, Puebla. Primero, árbol más próximo al árbol central; Tercero, árbol más lejano del árbol central.	43
Figura 7. Correlación entre el número de frutos por árbol y la distancia entre estos y el árbol central (fuente de polen) del cultivar Agua Nueva II con dos fuentes de polen, en Tetela de Ocampo, Puebla. 'Anna' ($r = -0.6221$, $\alpha = 0.0001$), 'Elba' ($r = -0.7101$, $\alpha = 0.0001$).	44

- Figura 8. Porcentaje de germinación *in vitro* de granos de polen de cuatro cultivares de manzano (*Malus domestica* Borkh) colectados en el Campo San Martín, Texcoco, Edo de México, después de la colecta (6-12 horas) y después de 30 días en refrigeración a 5° C. 45
- Figura 9. Efecto de la polinización manual sobre el amarre de frutos en el cultivar Agua Nueva II, al usar polen de los cultivares Anna, Maayan, Agua Nueva II (autopolinización), polinización libre (PL) y flores cubiertas con tela de tul en Tetela de Ocampo, Puebla. Mismas letras son estadísticamente similares, Tukey $\alpha \leq 0.05$. 46
- Figura 10. Efecto de la polinización manual sobre el amarre de frutos en el cultivar Agua Nueva II al usar polen de los cultivares Anna, Elba, Maayan, Agua Nueva II (autopolinización), polinización libre (PL) y flores cubiertas con tela de tul en el Campo San Martín, Texcoco, Estado de México. Mismas letras son estadísticamente similares, Tukey $\alpha \leq 0.05$. 50
- Figura 11. Correlación entre el número de semillas y el peso de fruto de manzano 'Agua Nueva II', de dos localidades. Tetela de Ocampo, Puebla ($r = 0.1436$, $\alpha = 0.0325$); Campo San Martín, Texcoco ($r = 4011$, $\alpha = 0.0001$). 57
- Figura 12. Correlación entre el número de semillas y el peso de fruto de manzano 'Agua Nueva II', de dos localidades. Tetela de Ocampo, Puebla ($r = 0.1328$, $\alpha = 0.0587$); Campo San Martín, Texcoco ($r = 4533$, $\alpha = 0.0001$). 57

I. INTRODUCCIÓN

El manzano (*Malus domestica* Borkh), es una especie de origen septentrional y su producción se desarrolla en las zonas templadas del mundo. En México se cultiva principalmente en las zonas templadas de los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango y Puebla, ocupando una superficie de 67, 496 has en 1997. Por otra parte, se han hecho diversos intentos de introducción en zonas de clima tropical y subtropical, con resultados infructuosos, debido a su inadaptación a dichos climas, ya que requiere acumular horas frío en el invierno, para su adecuada brotación de yemas vegetativas y florales. En los cultivares introducidos a las regiones productoras de México se han observado y seleccionado mutaciones naturales que requieren menor cantidad de frío que los cultivares originales, tal es el caso del manzano conocido como 'Agua Nueva II', que corresponde a un mutante de 'Golden Delicious', que presenta las mismas características de fruta de este cultivar.

En el estado de Puebla, en la Sierra Norte con clima de transición entre la zona templada y tropical, el manzano conocido como 'manzana rayada', ha conservado importancia, a pesar de que fue uno de los primeros materiales introducidos en México y de no tener la calidad de 'Red Delicious', 'Golden Delicious', 'Starking Delicious' y otras que se cultivan en el norte de la República Mexicana, y se sigue produciendo para el mercado en fresco, así como para la industria de vinos y sidra que últimamente han adquirido una gran importancia. Sin embargo, este material presenta diferentes problemas de enfermedades, que en diversas ocasiones han menguado la producción, de tal manera que hace difícil su redituabilidad. Recientemente, el cultivar Agua Nueva II, se han introducido en la región de la

Sierra Norte de Puebla, donde muestra una buena brotación floral, pero con la desventaja de un bajo porcentaje de amarre. Por las características de la región, este cultivar se considera con buen potencial por la calidad de la fruta y porque es factible cosecharse antes que en las zonas productoras de manzana en México.

Aunque uno de los síntomas de inadaptación de los frutales caducifolios es la reducción de la producción, en la mayoría de los cultivares comerciales de manzano también es conocida la presencia del fenómeno de autoincompatibilidad genética, de naturaleza gametofítica, lo que hace necesaria la polinización cruzada para la producción de fruto. En huertas establecidas con 'Agua Nueva II', se ha observado que cuando su floración coincide con la floración de algún árbol de otro cultivar el amarre de frutos se incrementa, lo que hizo pensar en la existencia del fenómeno de autoincompatibilidad, sin embargo, se desconoce con certeza la presencia de dicha acción en este cultivar de manzano.

En el presente trabajo se planteó conocer la influencia de la polinización con diferentes fuentes de polen sobre el manzano 'Agua Nueva II', con el fin de encontrar la causa de la caída excesiva de flores y los posibles cultivares polinizadores para incrementar la producción de fruto de este cultivar.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. SITUACIÓN DEL MANZANO EN EL MUNDO

La manzana es uno de los frutos más antiguos del mundo, que gracias a su plasticidad genética logró dispersarse a diversas regiones de clima templado y de transición, de tal forma que hoy está entre los frutos más comercializados y que se consumen en el ámbito mundial. Este cultivo se considera originario de Europa; sin embargo, la mayoría de los cultivares comerciales son de origen estadounidense (Ramírez y Cepeda, 1993).

La producción mundial de manzana en el periodo de 1992 a 1995 fue de 36 millones de toneladas anuales en promedio, mostrando una tendencia estable. Los principales países productores fueron: China, Estados Unidos, Alemania, Italia y Francia, que aportaron más del 55 % de la producción antes mencionada; sin embargo, las tendencias de producción en estos países fueron diferentes. China participó en promedio con el 23.6 % de la producción y de 1992 a 1995 la elevó en 52.5 %. Estados Unidos aportó el 13.5 % y su incremento fue del 3.13 %. Alemania contribuyó con el 6.5 % de la producción mundial, Italia con 6.09 % y Francia con 6.08 %; en estos tres países se observó una tendencia de disminución de su producción, mostrando entre 1992 y 1995 un descenso de 34.10, 14.08 y 11.88 %, respectivamente (ASERCA, 1995a).

Los principales países consumidores entre 1992 y 1995 fueron: China, Estados Unidos, Turquía, Alemania e Italia, los cuales consumieron cerca del 63 % de la producción mundial de manzana. China demandó cerca del 33.7 % en

promedio, consumo que se incrementó de 1992 a 1995 en 51.3 %. Estados Unidos consumió 9.4 % de la producción mundial en promedio; a diferencia de China, este país disminuyó su consumo anual en 9.43 %. Turquía, el tercer país consumidor, demandó en promedio 8.2 % de la producción mundial, demanda que también disminuyó en 3.6 %. Alemania e Italia, entre estos años demandaron 6.5 y 5.0 % de la producción mundial en promedio, respectivamente (ASERCA, 1995a).

Entre los años 1992 y 1995, las importaciones en el ámbito mundial se incrementaron moderadamente, ya que en el periodo 1992-93 se importaron 2.61 millones de toneladas, 7.36 % del total de la producción mundial, mientras que en 1995 las importaciones se incrementaron en 9.74 %, con respecto a 1992. Del total de las importaciones, aproximadamente el 63 % las realizaron Alemania, Reino Unido, Rusia, Los Países Bajos y Estados Unidos. Alemania demandó el 23.7 % en promedio del total; sin embargo, esta decreció en 9.13 % de 1992 a 1995. El Reino Unido participó con el 15.7 % en promedio, del total de las importaciones mundiales, que también se disminuyeron en 6.72 % de 1992 a 1995. Rusia, entre 1992 y 1995, demandó el 10.1 % del total en promedio, mientras que los Países Bajos el 9.9 % de las importaciones mundiales. Estados Unidos que demandó en promedio 4.1 % del total mundial, mostró una tendencia de incremento de las importaciones, ya que de 1992 a 1995 se alzaron en 10.5 % (ASERCA, 1995a).

Las exportaciones, en el mismo periodo las encabezaron 5 países, los cuales aportaron el 60 % del total mundial; estos fueron: Estados Unidos, Francia, Italia, Países Bajos y Chile. Estados Unidos, participó con el 16 % del total mundial en promedio, mostrando un incremento de 74.13 % entre 1992 y 1995. Francia aportó el 15.7 %, mostrando una disminución del 1.58 % de 1992 a 1995. Italia aportó el 10.3 % e incrementó esta cantidad en 8.6 % en el mismo periodo. Los Países Bajos contribuyeron con el 9.65 % en promedio, mostrando un incremento de 31.2 % de

1992 a 1995. Chile aportó el 8.6 % de las exportaciones, que disminuyeron en 4.4 % de 1992 a 1995 (ASERCA, 1995a).

2. SITUACIÓN DEL MANZANO EN MÉXICO.

El manzano ocupa en nuestro país un lugar importante, se coloca en el sexto lugar en producción con el 4.2 % del volumen total de los productos frutícolas; está dentro de las frutas más consumidas con 6.5 Kg por persona al año y primer lugar en las importaciones (ASERCA, 1995b). El manzano se cultiva en 23 estados de la República, de los cuales entre 1995 y 1997 cuatro destacaron por su participación en la superficie sembrada y producción con 80.0 y 78.0 % del total nacional y son: Chihuahua, Durango, Coahuila y Puebla. La superficie sembrada en la República Mexicana entre 1995 y 1997 fue de 70 339 ha, que produjeron 489 738 toneladas. De esta superficie, el 64.5 % se cultiva con riego, en donde se obtienen los mejores rendimientos con 9.25 ton ha^{-1} , en comparación con la zona de temporal en donde se obtienen 4.41 ton ha^{-1} , que originaron 390 276 y 99 462 toneladas respectivamente (SAGAR, 1998).

Chihuahua, durante el periodo de 1995 a 1997 participó con el 38.96 % de la superficie sembrada y con el 53.26 % de la producción total nacional; Durango en el mismo periodo presentó el 18.66 de la superficie sembrada y el 10.16 % de la producción nacional; Coahuila participó con el 10.17 % de la superficie y el 7.75 % de la producción y Puebla contribuyó con 12.25 % de la superficie sembrada y con el 6.81 % de la producción. En los primeros dos estados, la mayoría de su área sembrada se desarrolló en sistemas tecnológicos con riego (97.18 y 91.23 %, respectivamente), Coahuila tuvo la mitad de su área productiva en riego (50.98 %) mientras que Puebla basó su producción bajo el temporal, con el 99.14 % del área sembrada (SAGAR, 1998).

El consumo de manzana en México no es abastecido del todo por la producción nacional, ya que entre 1993 y 1996 se importó en promedio 111 978.96 toneladas anuales, poco más del 15 % del consumo nacional. Las importaciones en este periodo se mostraron a la baja, ya que entre 1993 y 1996 se disminuyeron en 26.86 %. El principal abastecedor de las importaciones durante este periodo fue Estados Unidos que aportó el 96.67 % en promedio del total y en mucho menor aporte, Nueva Zelanda, Chile y Canadá con 1.4, 1.38 y 0.47 % respectivamente (INEGI, 1993a, 1994a, 1995a, 1996a).

De la producción nacional, un bajo porcentaje se destina a la exportación, ya que entre 1993 y 1996 se exportaron en promedio 74.46 toneladas anuales, menos del 0.02 % del total producido y ha sido muy variable, pues en 1993 se exportaron 57.98 toneladas, mientras que en 1994 se exportó 109.20 toneladas. La exportación se dirigió principalmente hacia Centroamérica: El Salvador, Nicaragua y Guatemala, con el 41.77, 22.39 y 21.51 % en promedio, del total comercializado (INEGI, 1993b, 1994b, 1995b, 1996b).

3. PERSPECTIVAS DE LA PRODUCCIÓN DE MANZANA

Los escenarios que se presentan para la producción de manzana en nuestro país dependen tanto de factores nacionales como internacionales.

Nacionalmente, se señala que la política agropecuaria apoya principalmente a sectores tradicionales de productos anuales, dejando de lado a productos rentables como la manzana. Los manzaneros nacionales no solo se enfrentan a los problemas tradicionales de los costos crecientes de insumos y financieros, sino además enfrentan la problemática particular de la falta creciente de agua. Chihuahua, el principal estado productor de manzana, padece cada vez más la falta de agua, por lo que las zonas productoras han tendido a desplazarse cada vez más a la sierra, en

donde existe agua, pero en donde las condiciones climáticas no son las idóneas para la producción. Por otra parte, los productores de esta entidad están llevando a cabo un proceso de reconvención del cultivo a través de un esquema de producción en alta densidad. De ésta forma, con una mayor densidad de árboles, de 1250 a 2550 árboles por hectárea, se busca obtener producciones del orden de 60 toneladas por hectárea, en lugar de 15 toneladas, que se obtienen en promedio en las plantaciones tradicionales de 350 a 400 árboles. En estos sistemas que se establecen con el uso de portainjertos enanizantes, al reducirse el tamaño del árbol, se reducen los costos de manejo al reducirse las podas y facilitarse recolección en la cosecha, además de permitir la cosecha de fruta al tercer año del establecimiento (ASERCA; 1995b).

Internacionalmente, las perspectivas dependen de la vinculación estrecha que existe entre el mercado nacional y el de los Estados Unidos. Se estima que el 21 % del total de las ventas externas de manzana de E U entre 1994-95 se destinaron a México. También, durante 1995 se incrementó la superficie cosechada de E U, por lo que se incrementa la producción, impactando positivamente sobre la oferta exportable de este país hacia el nuestro, el cual busca incrementar ventas en el corto plazo, mientras que en el mediano plazo se podría enfrentar a la posibilidad de que E U se esté preparando para inundar nuestro mercado una vez que la manzana este libre de arancel. El esquema arancelario para el caso de la manzana, negociado en el Tratado de Libre Comercio de Canadá-EU-México, estableció una cuota de 55 mil toneladas, con un arancel base de 20 %, que será desgravado en diez etapas anuales a partir de la firma del convenio. Sobre la importación que exceda dicho cupo, nuestro país aplicará una tasa arancelaria que no exceda de la menor de dos tasas: 20 % ad valorem, o la tasa de la nación más favorecida, todo esto para el producto de origen estadounidense. Pese a este arancel-cuota, E U lo ha rebasado desde el inicio del TLC, de tal forma que para 1994 la importación llegó a 154 mil toneladas; es decir, 180 % más de lo señalado en la cuota. Esto habla de la

importancia que guarda el mercado de México para la producción de manzana estadounidense (ASERCA, 1995b).

4. PRODUCCIÓN DE MANZANO EN ZONAS SUBTROPICALES

La producción de especies frutales de clima templado en zonas tropicales y subtropicales se ha generalizado, debido a su creciente demanda en estas zonas; en la primera zona hay poco frío invernal y se orienta para una cosecha anual en la época más oportuna al mercado, antes de la temporada regular; mientras que en la segunda no hay frío y se dirige a la obtención de dos cosechas por año. Su producción en estas zonas solo puede lograrse forzando a los árboles a brotar, crecer y fructificar, sin permitir que entren en un estado de reposo profundo que inhiba su actividad. El sistema de producción se basa en prácticas de defoliación, castigos por falta de agua y aplicación de productos estimulantes de la brotación. En las áreas subtropicales, por las condiciones ambientales de poco frío, se pueden adaptar cultivares de frutales con poco requerimiento de frío (Díaz, 1989).

5. SINTOMAS DE FALTA DE HORAS FRÍO EN CADUCIFOLIOS

La dispersión y el cultivo de frutales caducifolios a regiones de climas tropicales y subtropicales, en las cuales prevalecen temperaturas cálidas durante el invierno o irregulares, trajo consigo una serie de anomalías en el desarrollo de éstas especies, tales como: descanso prolongado de yemas, dominancia apical, periodo prolongado de floración, crecimientos largos y vigorosos, formación reducida de espolones en manzano y peral, caída de yemas en durazno, chabacano y cerezo, retraso en el inicio de la fructificación en árboles jóvenes, y reducción de la producción, según el grado en que los requerimientos de frío sean insatisfechos (Maggs, 1975).

Las alteraciones en el desarrollo de los árboles en zonas de inviernos con baja acumulación de horas frío generan alteraciones en el amarre, desarrollo y maduración de los frutos, en contraste con las zonas productoras de manzano en donde son satisfechas las necesidades de frío; en estas zonas la floración de cultivares de manzana puede durar de 7 a 14 días, en contraste con los mismos cultivares desarrollados en zonas en donde las necesidades de horas frío no son satisfechas, que prolongan su periodo de floración hasta en 45 días (Maggs, 1975). En la región de Canatlán, Durango, el cultivar Starking Delicious es fuertemente afectado por los inviernos con temperaturas cálidas; en 1977 después de un invierno que satisfizo las necesidades de horas frío, presentó su periodo de floración entre el 15 de marzo y 15 de abril, mientras que en 1978, después de un invierno con temperaturas cálidas, la floración se presentó entre el 15 de abril y el 20 de mayo, 30 días más tarde, que ocasionó una desincronización de floración con los cultivares polinizadores (Jiménez y Luis, 1978). El retraso de tres semanas en la floración en los cultivares Rome Red y Richared, desarrollados en Nuevo México, fue suficiente para reducir su producción en 50 y 20 %, respectivamente (Sullivan, 1965).

6. ESTIMULACIÓN DE LA BROTAÇÃO EN ZONAS SUBTROPICALES

En las zonas subtropicales existen condiciones ambientales para que los árboles entren en reposo; sin embargo, por su invierno poco frío, la brotación floral y vegetativa suele retrasarse y ser menos compacta. Este efecto puede atenuarse si el reposo de los árboles se adelanta al inducir la defoliación prematuramente. En el manzano la defoliación química en otoño, con una mezcla de soluciones de sulfato de cobre al 3 % y urea al 10 %, adelanta la brotación floral haciéndola más uniforme (Díaz *et al.*, 1987).

El uso de productos estimulantes de la brotación es necesario en las zonas subtropicales para adelantar, aumentar y uniformizar la apertura de las yemas; la

aplicación de cianamida hidrogenada de 1 a 4 % en manzano puede inducir este efecto sobre la floración (Díaz *et al.*, 1987). Powell (1986) encontró que la cianamida hidrogenada aplicada antes de la brotación natural, logró uniformizar la brotación en manzano; Williams y Tax (1990) con este mismo producto, en los manzanos 'Winter Banana' y 'Wealthy' aumentó la brotación de yemas; Miranda (1994), en 'Agua Nueva II' al aplicar Dormex al 1 % solo o en combinación con Citrolina al 1 %, observó un ligero adelanto de la floración de una semana y mayor uniformidad de esta.

La época de brotación también es manipulada con poda y sequía inducida. En Sonora se ha encontrado que podando los árboles de manzano muy temprano, antes del reposo verdadero, se retrasa la apertura de yemas, mientras que con mayor sequía hasta antes del primer riego del ciclo reproductivo en diciembre o enero, se adelanta la floración (Díaz *et al.*, 1987).

7. CULTIVARES DE MANZANO

En la zona de la Sierra Norte de Puebla, en el municipio de Tetela de Ocampo, el cultivar conocido como Agua Nueva II se introdujo recientemente, el cual se ha desarrollado satisfactoriamente. Este cultivar es un mutante derivado de 'Golden Delicious', que fue observado e identificado por primera vez en una huerta comercial localizada en la región de Agua Nueva, estado de Coahuila, México durante su periodo de floración en la primavera de 1975 (Mata *et al.*, 1985). Este cultivar presenta las mismas características de fruto que 'Golden Delicious' pero solo requiere de 500 horas de frío para obtener una buena floración. Las flores se pueden presentar profusamente en madera de un año, debido al balance de hormonas endógenas del tejido de las yemas. En este tejido se encontró una tendencia de mayor concentración de citocininas con respecto de las giberelinas y auxinas durante la iniciación de las yemas florales (Ramírez y Mata, 1987).

En la misma región de la Sierra Norte de Puebla también se introdujeron otros cultivares como Anna, Elba y Maayan, los cuales no presentan muy buenas características de fruto, pero tienen buenos periodos de floración, que los hace potencialmente utilizables como polinizadores.

El cultivar llamado Anna, se originó en Doar Na Shomron, Israel, por Abba Stein. Introducido en 1963. Es el resultado de la cruce entre 'Red Hadassiya' (variedad local de Israel) y 'Golden Delicious' en 1959. Produce frutos largos, de piel roja de lado a lado; con sabor subácido a dulce. Madura en Israel de finales de junio a principios de julio. Los árboles producen anualmente y son de bajo requerimiento de frío (Brooks y Olmo, 1972).

El cultivar Elba, se originó por mutación de yema a partir de 'Elha' y fue seleccionado en el Centro de Fruticultura del Colegio de Postgraduados por el Dr. Facundo Barrientos Pérez. La característica que hace diferente a este mutante del cultivar original, es un mayor grado de formación de puntos de fructificación (espolones) (Muratalla, 1986). 'Elha', en el área de Chapingo tiene su época de floración en marzo y se cosecha a fines de julio. La primera cosecha se espera en el cuarto año. El árbol es grande, muy productivo, los frutos se forman tanto en espolones como en ramas de un año. El fruto es redondo, ligeramente ovalado, color verdoso amarillento, de 60 a 80 mm de diámetro, sabor parecido al del grupo de 'Delicious', con excelente aroma y textura (Villegas, 1982).

El cultivar Maayan, fue originado en Rehovot, Israel, por Oppenheimer e introducido en 1967. Proviene de la cruce de una selección F2 ('Calville St Sauveur' x 'Damascus') y 'Delicious'. Algunas de las principales características del fruto son: tamaño medio (60-80 mm), redondo, de piel con fondo color amarillo, cubierta en 50 % de rojo, firme, buena textura y aroma. Madura entre principios de junio y finales de julio. Los árboles son grandes, con carga sobre espolones, pudiendo inducirse la

producción en el tercer año. La floración se presenta desde finales de febrero hasta el comienzo de marzo. Su nombre en hebreo significa primavera (Brooks y Olmo, 1972).

8. BIOLOGÍA FLORAL

La biología floral comprende todo cuanto atañe a las funciones florales; pero generalmente se restringe su sentido al estudio de las relaciones que se establecen entre las flores y los agentes polinizantes, contemplando las particularidades de la estructura floral y de la polinización durante la antesis (Font Quer, 1979). La antesis comprende el periodo en el cual la flor libera los granos de polen, el estigma es receptivo y hasta que se lleva a cabo la fecundación de los óvulos (Kearns e Inouye, 1993).

8.1. Floración

La floración es el proceso en que los sépalos y pétalos se expanden, se mueven por separado y el (los) estigma (s) y estambres quedan expuestos. Cuando un árbol presenta de 12 a 15 % de las flores abiertas se dice que esta en el inicio de la floración y cuando presenta de 95 a 100 % de flores abiertas se dice que esta en el fin de la floración. La mayoría de los cultivares de diferentes especies generalmente no coinciden en su floración, distinguiéndose tres tipos, de acuerdo al tiempo en que florecen, tempranos, intermedios y tardíos. Sin embargo, esta característica puede ser influenciada por el ambiente. Un mismo cultivar que se desarrolla en diferentes latitudes presentará diferencias en su floración, siendo más temprana y compacta la floración en los árboles desarrollados en latitudes mayores, en climas más frescos, en comparación con los árboles desarrollados en menores latitudes (Faust, 1989).

En 'Agua Nueva II', se ha observado el inicio de la brotación a mediados de febrero y su termino a finales de marzo, un mes más temprano que 'Golden Delicious', de donde se ha originado (Ramírez y Saavedra, 1990); en condiciones de Chapingo se ha observado su inicio a finales de febrero y su termino a principios de abril (Miranda, 1994). La floración del cultivar Anna, por ser un material de bajo requerimiento de frío, es muy temprana; en Chapingo se ha observado extensa, iniciándose en el mes de febrero y finalizando a principios de mayo (Armas, 1985). En 'Maayan' el periodo de floración se inicia a finales de febrero y finaliza a principios de marzo (Brooks y Olmo, 1972). En Chapingo se ha observado el inicio de la floración a mediados de enero y su fin a finales de marzo, mostrando su pleno a mediados de febrero (Raya, 1986) y de mediados de febrero a finales de marzo, mostrando su plena floración a principios de marzo (Grijalva, 1988). 'Elba', al igual que 'Elha', de donde se originó por mutación de yemas, en condiciones de Chapingo presenta su periodo de floración en el mismo periodo: en el mes de marzo (Muratalla, 1986).

8.2. Polinización

La reproducción sexual y el desarrollo de la semilla dependen de la polinización; esto es, la transferencia de polen desde la antera al estigma, ya sea de manera artificial o naturalmente. El grano de polen germina una vez alcanzando el estigma y el tubo polínico desciende por el estilo; la fecundación tiene lugar al unirse el núcleo masculino del tubo polínico con la oófera en el saco embrionario. Si estos pasos ocurren, las semillas pueden desarrollarse junto con el fruto y permanecer en la rama del árbol (Faust, 1989). Un árbol de manzano adulto de gran tamaño puede producir hasta 100 000 flores, si el 2 % de las flores fueran a prender el fruto, se produciría buena cosecha (Way *et al.*, 1988). Algunos de los cultivares de manzano pueden producir frutos partenocárpicos; sin embargo, las manzanas deben de tener semillas para su desarrollo y para que esto suceda debe existir previamente la

polinización de las flores (Westwood, 1982). Con frecuencia una sola semilla es suficiente para que desarrolle un fruto, aunque el número de semillas requerido varía con el cultivar, y en tal caso, la producción de frutos puede ocurrir aún con un alto grado de esterilidad generacional (Way *et al.*, 1988).

8.3. Agentes Polinizantes

La mayoría de las especies de frutales son polinizados por los insectos, con diversas excepciones como en el caso del pistacho, castaño, avellano y nogales, las cuales son polinizadas por acción del viento (Westwood, 1982). La polinización por el viento, es distribuida al azar, requiriéndose una gran cantidad de granos de polen, en una relación promedio de 3 millones de granos de polen por óvulo, en las especies que han evolucionado en dicho patrón de dispersión; considerándose por eso, a las especies en donde se realiza la transferencia de polen entomófila como más eficiente, por la especificidad existente entre la flor y el insecto vector que garantiza la transferencia de polen, y donde la relación entre los granos de polen producidos por óvulo es mucho menor (Linskens, 1982).

En la mayoría de las especies de frutales con polinización entomófila, las abejas son consideradas como los insectos polinizantes más importantes (Hopping y Jerram, 1980). En los manzanos y otras especies que presentan el fenómeno de autoincompatibilidad, la importancia de estos insectos se hace mayor, y si estos vectores son escasos la producción de fruta se disminuye considerablemente (Benedek y Nyeki, 1995). Sin embargo, cuando las condiciones ambientales son adversas (velocidad del viento mayor de 5 kph, temperatura menor de 10° C), los insectos nativos juegan un papel importante en la polinización de las flores (Boyle y Philogene, 1985).

El diseño de establecimiento de los huertos también puede influir sobre el recorrido de los insectos polinizantes entre los árboles. El recorrido es más amplio en el diseño hexagonal en comparación con los diseños basados en hileras, más aun si las hileras están distanciadas a más de 9 metros, ya que en estos últimos los insectos tienden a seguir sobre las hileras (Dennis, 1979).

8.4. Polinizadores

Cuando se generan nuevos cultivares de manzano, es de considerable importancia determinar los requerimientos de polinización de dichos materiales, así como de los mejores cultivares polinizadores cuando se trata de cultivares auto-incompatibles (Spiegel-Roy y Alston, 1982). La mayoría de los cultivares de las especies frutales no coinciden en su floración, y ciertamente es difícil influir en dos cultivares para que florezcan a la par, ya que año con año varían las condiciones climáticas y los diferentes cultivares responden diferente en su floración en dichas condiciones ambientales. Solo con la experiencia y probando diferentes cultivares, se puede determinar cuales son más consistentes en la coincidencia de la floración o como ciertos cultivares responden en la modificación de su floración. Para asegurar una buena polinización del cultivar principal, algunos recomiendan la plantación de tres cultivares, uno que generalmente florezca ligeramente antes y otro que florezca ligeramente después del cultivar principal (Faust, 1989). El establecimiento de los árboles polinizadores entre los del cultivar comercial depende principalmente de la cantidad de polen que liberen los primeros; sin embargo, en la mayoría de los cultivares más utilizados como polinizadores, un árbol puede proveer de suficiente polen a los árboles adyacentes que se encuentren en los primeros 5 metros de ambos lados, variando esto de acuerdo a la distancia de establecimiento de los árboles, si los árboles se encuentran más cercanos el cubrimiento del polinizador será de menor distancia (Maggs *et al.*, 1971).

8.5. Características del Polen

La utilidad de los cultivares polinizadores depende de la cantidad de polen viable que producen. En las flores de manzano, las anteras contienen alrededor de 3500 granos de polen en promedio, variando de acuerdo al cultivar. Las anteras de 'Stayman' y 'Delicious' producen más de 6 000 granos de polen, mientras que las anteras de 'Winesap' producen solo 400. Los cultivares triploides producen de 2.6 a 8.5 veces más granos de polen que los cultivares diploides; sin embargo, su viabilidad es menor, de tal manera que resultan menos efectivos como polinizadores (Faust, 1989). La temperatura ejerce gran influencia sobre los granos de polen; Si la temperatura invernal fue demasiado fría, se disminuye la cantidad producida de los granos de polen. También si la temperatura durante el inicio de la primavera fue muy baja se disminuye la cantidad de polen producido, así como su viabilidad. Por otra parte, si la temperatura durante la primavera es alta, el polen puede resultar estéril, dependiendo de la sensibilidad del cultivar; si la temperatura durante esta estación sobrepasa los 20° C el cultivar Red Astrachan produce polen estéril, mientras que 'Cox's Orange Pippin' en temperaturas primaverales de 32° C produce polen normal (Nyèki, 1980; citado por Faust, 1989). El 'Golden Delicious', produce buena cantidad de polen y su germinación puede llegar a ser mayor de 90 %, siempre y cuando la temperatura durante el desarrollo foral no baje de 12° C y no sobrepase los 25° C (Montalti y Filiti, 1984).

8.6. Fase Progámica

El termino fase progámica se refiere a los acontecimientos reproductivos sexuales en angiospermas que empieza con la germinación de los granos de polen en el estigma, continua con el desarrollo del tubo polínico en el estilo y terminan cuando llegan y penetran el óvulo, en donde fecunda al gametofito femenino (Pimienta, 1990). Tanto la germinación como el desarrollo del tubo polínico en los

granos de polen compatibles y parcialmente compatibles, son influenciados por la temperatura. Sin embargo, su desarrollo no necesariamente es lineal con la temperatura, sino que influye bastante el cultivar (Faust, 1989). Williams y Wilson (1970), desarrollaron un índice de desarrollo de tubo polínico de manzano, que varía con la temperatura ambiental. De acuerdo a este concepto, el índice de desarrollo diario del tubo polínico puede ser elaborado diariamente, considerando la temperatura media diaria durante el 50, 90 y hasta que el árbol alcanza el 100 % de la floración. Los índices diarios son determinados por la distancia recorrida por los tubos polínicos dentro del estilo y su valor se expresa como porcentaje, en relación al tamaño del estilo, de acuerdo a la temperatura media del día de la siguiente manera:

Temperatura Media Diaria ° C.	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Índice de Desarrollo del Tubo Polínico %.	8	9	10	11	12	14	17	20	25	35	50

Por ejemplo, si la temperatura media en los siguientes días después de la apertura floral fue de 13° C, se espera que el tubo polínico en dicha flor llegue al ovario en 4 días.

Durante el desarrollo del tubo polínico de la mayoría de las especies, después de una polinización compatible, conforme va madurando el tubo a lo largo de la pared se forma una capa de calosa y a intervalos más o menos regulares dependiendo de la especie se engrosa esta capa de calosa, de manera que forma tapones transversales que aíslan la zona del tubo más cercana al grano de polen en donde ya ha cesado la actividad o se ha reducido bastante (Franklin-Tong *et al.*, 1994). Los tubos polínicos de manzano son fácilmente identificables, ya que durante su desarrollo forman acumulaciones compactas de calosa (tapón de calosa) a todo lo largo (Jefferies y Belcher, 1974).

8.7. Receptibilidad del Estigma

Para que de inicio la fase progámica, el estigma receptor del polen debe de proporcionar al grano de polen las condiciones necesarias para su germinación (Pimienta 1987). El estigma de tipo húmedo es el que comúnmente se observa en las especies frutales. Los estigmas húmedos secretan un exudado que se compone de agua, lípidos, fenoles, azúcares y minerales. Entre estos componentes destacan los lípidos y fenoles; los lípidos confieren a la superficie una característica de resistencia a la desecación, tanto de las células del estigma como de los granos de polen. Los compuestos fenólicos ejercen un proceso selectivo regulador que estimula o inhibe la germinación de los granos de polen (Kapil y Bhatnagar, 1975). En las especies de las subfamilias *Prunoideae* y *Pomoideae*, en la apertura de la flor, el estigma en su madurez presenta una secreción acuosa constituida de azúcares, aminoácidos y un complejo enzimático (estigma de tipo húmedo), que proporciona al grano de polen un medio de germinación (Heslop-Harrison y Shivanna, 1977).

La capacidad receptiva del estigma varía entre 5 y 7 días después de la apertura floral en el manzano, reportándose que puede prolongarse hasta 13 días como resultado de la aplicación de nitrógeno en el verano previo a la floración (Williams, 1965). Sin embargo, aun cuando exista variación en el periodo de receptibilidad del estigma, para la mayoría de las especies de frutales, la polinización que ocurre en el primer día de la apertura de la flor es el más eficiente, ya que se debe considerar además el periodo en el cual el óvulo es viable (Faust, 1989).

En condiciones normales la receptibilidad del estigma no es limitante para el amarre de frutos (Stösser y Anvari, 1982); sin embargo, si la temperatura es alta durante la el periodo de receptibilidad del estigma (19° C, media diaria) la secreción del estigma se ve reducida (Tromp y Borsboom, 1994) al igual que cuando la velocidad del viento es superior a $5 \text{ km} \cdot \text{h}^{-1}$ (Pimienta, 1990).

8.8. Características de los Óvulos

Después de la polinización y de que el desarrollo de los tubos polínicos se llevó a cabo hasta la cavidad ovárica, para que ocurra la fecundación y el desarrollo de las semillas y el fruto, los óvulos deben de estar maduros y presentar viabilidad; es decir, tener la aptitud de poder ser fecundados. En los cultivares diploides de manzano y peral, la diferenciación de los óvulos generalmente coincide con la apertura floral y su fecundación posterior es posible. Sin embargo, los óvulos pueden degenerar poco después de la apertura floral o permanecer viables por largo tiempo. La degeneración de los óvulos de las flores terminales ocurre después de los óvulos de las flores laterales. La longevidad de los óvulos en el manzano puede variar de acuerdo al cultivar; en 'Delicious' la longevidad fue estimada en 5 días, mientras que en 'Jonathan' fue de 7 a 8 días, en 'Calvil' y 'Melba' de 10 a 12 días y en 'Dzsojsz' de 14 días. En estos cultivares, más de la mitad de los óvulos degeneran dentro de los dos primeros días y alrededor del 80 % después de los 4 días (Faust, 1989). Stösser y Anvari (1982) observaron en dos cultivares de cerezo, que la viabilidad de los óvulos, influyó bastante sobre el amarre de frutos, cuando se realizó la polinización 10 días después de la apertura floral (menor viabilidad de óvulos) el porcentaje de amarre se vio disminuida, en comparación de cuando se realizó en el momento de la apertura floral. También, cuando las temperatura ambientales aumentan (19° C, media diaria) la viabilidad de los óvulos se reduce, disminuyendo el amarre de frutos (Tromp y Borsboom, 1994).

8.9. Periodo de Polinización Efectiva

El periodo de polinización efectiva (PPE) lo definió Williams (1965), como el periodo en el cual una flor puede ser polinizada y formar el fruto. Este autor estableció que el PPE estaba delimitado por la longevidad de los óvulos y el tiempo que le lleva al tubo polínico desarrollarse hasta el saco embrionario y fecundarlo; el

PPE lo estableció mediante el periodo en que duran viables los óvulos, menos el tiempo entre la polinización y la fecundación.

Varios factores modifican la extensión del periodo de polinización efectiva, al modificar el tiempo de desarrollo del tubo polínico o la longevidad de los óvulos. Los óvulos de los cultivares triploides son de 2 a 3 días más longevos, en comparación de los óvulos de los cultivares diploides, teniendo de esta manera un PPE de 2 a 3 días más prolongados (Faust, 1989). En 'Golden Delicious' el periodo de polinización efectiva se prolongó de 2 a 3 días a 13° C de temperatura media ambiental, en comparación de cuando la temperatura fue de 19° C (Tromp y Borsboom, 1994).

Cuando existen deficiencias de boro y/o calcio, la capacidad germinativa del grano de polen y el desarrollo del tubo polínico disminuyen. En ambos casos, al alterarse el periodo de viabilidad de los óvulos o de la fase progámica, se altera la duración del periodo de polinización efectiva, afectando directamente el amarre de frutos (Pimienta, 1987). Por el contrario, cuando a las plantas se les ha suministrado fertilizante nitrogenado, el periodo de polinización efectiva se incrementa y se mejora la producción de frutos (Williams, 1965).

El efecto de la temperatura ambiental durante el proceso de polinización y fecundación puede ser determinante, ya que temperaturas extremas disminuyen la capacidad del grano de polen para germinar, la capacidad receptora del estigma, el desarrollo del tubo polínico y la viabilidad de los óvulos; en cualquiera de estos casos, se altera el periodo de polinización efectiva, lo que puede disminuir la proporción de frutos amarrados (Pimienta, 1987).

8.10. Incompatibilidad

A la incapacidad de las plantas hermafroditas de formar semillas viables al realizarse la autopolinización, se le conoce como autoincompatibilidad (Faust, 1989).

Tres cuartos de las angiospermas en las que se ha reportado este fenómeno son especies leñosas (Sutherland, 1986) y la mayoría de los cultivares de manzano están dentro de este grupo (Brown, 1975) y puede ser gametofítica o esporofítica, dependiendo del sitio en donde se manifiesta la reacción de incompatibilidad (Kearns e Inouye, 1993).

El sistema de incompatibilidad gametofítico multialélico de un locus es el más común en las especies cultivadas. Los alelos son determinados por un locus S, un alelo se encuentra en el estigma y el estilo, y otro en el grano de polen haploide. Si el alelo S del polen es igual al alelo S del gineceo se presenta la respuesta de incompatibilidad con la inhibición del desarrollo del tubo polínico dentro del estilo (Richards, 1986). Este sistema es típico en especies de plantas con granos de polen binucleados, con gran periodo de viabilidad, buena germinación *in vitro* (Brewbaker, 1967) y con estigma del tipo húmedo (Heslop-Harrison y Shivanna, 1977).

En el sistema de incompatibilidad esporofítico, la antera diploide confiere sustancias al grano de polen, responsables de la reacción de incompatibilidad. Si los granos de polen son depositados en el estigma de una flor con el mismo genotipo, se presenta una reacción de incompatibilidad inhibiéndose la germinación de los granos de polen (Richards, 1986). Este sistema es típico en plantas con granos de polen trinucleados de poca viabilidad, pobre germinación *in vitro* (Brewbaker, 1967) y con estigma de tipo seco (Heslop-Harrison y Shivanna, 1977).

Principalmente en el sistema gametofítico, después de una polinización autoincompatible, el desarrollo del tubo polínico se ha observado similar al desarrollo del polen de una polinización compatible, con algunas diferencias fisiológicas. Cuando el tubo polínico incompatible con el estilo comienza a desarrollarse, el tejido del estilo produce enzimas inhibidoras de la síntesis de proteínas (como la cicloheximida) y de enzimas degradadoras de la pared celular, lo que reduce su

desarrollo y acelera su envejecimiento, fomentando la formación de calosa (Franklin-Tong *et al.*, 1994). En comparación con los tubos polínicos desarrollados en una polinización compatible, los tubos polínicos incompatibles han sido de más lento desarrollo, con mayor cantidad y longitud de tapones de calosa en su interior y han presentado inhibición de su desarrollo en algún sitio del estilo, mostrando también las puntas engrosadas o reventadas (Newbiggin *et al.*, 1994).

Los cultivares de manzano que presentan el fenómeno de incompatibilidad se han clasificado dentro del sistema gametofítico (Modlibowska, 1945). Sin embargo, en un estudio realizado en 610 cultivares de manzano por Dutova *et al.*, (1984), se observó variación en el grado de desarrollo de los tubos polínicos, determinándose tres sitios de barreras en las autopolinizaciones: 1) El grano de polen no germina en el estigma; 2) El grano de polen germina, pero los tubos polínicos solo penetran de un tercio a la mitad del estilo después de formar tapones de callosa que evitan el desarrollo; 3) El tubo polínico penetra el saco embrionario pero la fecundación no ocurre.

El manzano 'Golden Delicious', de donde se originó el cultivar mutante Agua Nueva II, ha presentado diferentes respuestas de compatibilidad al utilizar la autopolinización. Westwood (1982), Visser (1983), Bergamini *et al.*, (1986), Ishiyama *et al.*, (1995), observaron a 'Golden Delicious' como autoincompatible, mientras que Griggs (1970), Smykov y Popov (1984), Niu *et al.*, (1994), como parcialmente autocompatible (entre 2 y 16 % de formación de fruto con respecto a las flores autopolinizadas).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. LOCALIZACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LAS LOCALIDADES

El experimento se llevó a cabo en dos localidades: en Cuapancingo, municipio de Tetela de Ocampo, Puebla y en el Campo Experimental San Martín, de la Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Estado de México, en el año de 1997.

Tetela de Ocampo, se ubica en la Sierra Norte de Puebla, a 1 790 msnm, sus coordenadas son 18° 54' latitud norte y 98° 10' longitud oeste y su clima está clasificado como templado subhúmedo con lluvias en verano, poca oscilación térmica, porcentaje de lluvia invernal menor de 5 % y presencia de sequía intraestival: Cb(w₁) (w)i'gw". La temperatura media anual es de 17.1° C y la precipitación anual de 775 mm (García, 1988). El lote donde se localiza la huerta tiene suelo arcilloso, con pendiente del 15 al 20 %.

El Campo Experimental San Martín, se localiza en los 19° 29' latitud norte y 98° 53' longitud oeste y a una altitud de 2 240 msnm. Presenta un clima C(w₀) (w) b (i') g, correspondiente al más seco de los templados subhúmedos, con porcentaje de lluvias invernal que va de 5 a 10.2 %, con verano fresco y largo, con una temperatura media anual de 15° C, que oscila entre 12 y 18° C, con precipitación anual media de 645 mm (García, 1988). El suelo pertenece a la serie "Horno" clasificado como profundo, oscuro, de textura migajón arcillo-arenosa en los primeros 40 cm del perfil y migajón-limosa en los siguientes 130 cm, buena capacidad de retención de humedad, con génesis a partir de los depósitos aluviales y coluviales, pH entre 6.4 y 7.2, contenido mediano de materia orgánica y fósforo, alto en potasio y magnesio asimilables y baja conductividad eléctrica (Grijalva, 1988).

2. MATERIAL VEGETAL

Se utilizaron árboles de manzano de 'Agua Nueva II' injertados sobre el portainjerto MM 106. En Cuapancingo, Tetela de Ocampo, Pue, la plantación se estableció en 1987 a curvas de nivel, bajo un sistema de espalderas, con una distancia entre plantas de 2, 3 y 4 m y entre filas 7-8 m, orientadas de norte a sur, entre las hileras se establecieron cultivos anuales. En el Campo Experimental San Martín, los árboles se establecieron en 1988, a una distancia de 2 m entre plantas y 3 m entre hileras, fueron injertados sobre MM106 y no se cultivaron especies anuales. Los cultivares utilizados como polinizadores fueron: Anna, Elba y Maayan.

2.1. Colecta de Polen

El polen que se utilizó en la polinización se colectó entre el 25 y 30 de enero de 1997, de 'Agua Nueva II', Anna', 'Elba' y 'Maayan', que se encontraban en el Campo San Martín. Cuando los botones se encontraban en estado de globo se cortaron entre 100 y 150, guardándolos en una bolsa de papel. Posteriormente se separaron las anteras de la flor y se pusieron a secar sobre una hoja de papel bajo una lámpara de 60 W, a 40 cm por 24 horas. Transcurrido ese tiempo, las anteras se sacudieron y frotaron sobre una malla metálica de 0.5 mm para separar los granos de polen de las anteras. Los granos de polen colectados se introdujeron en bolsas de polietileno de 8 x 13 cm, amarrándolas con un cordel y se guardaron en refrigerador a 5° C hasta su utilización.

2.2. Periodos de Floración

Para conocer el potencial de cada uno de los cultivares como posibles polinizadores, en cada una de las dos localidades en donde se desarrollo el estudio y por cada uno de los cultivares, se anotó el día de inicio y fin de la floración para establecer su periodo. Se consideró como inicio de la floración cuando los árboles

presentaron entre el 12 y 15 % de las flores abiertas y como fin de la floración cuando los árboles presentaron más del 95 % de las flores con caída de pétalos.

3. POLINIZACIÓN

El efecto de los diferentes cultivares polinizadores sobre el cultivar Agua Nueva II se estudio mediante la realización de tres experimentos. En el experimento 1 se realizó una simulación de árboles polinizadores mediante la distribución de ramas de los cultivares polinizadores en la huerta de 'Agua Nueva II', dejando el trabajo de la distribución del polen a los insectos polinizantes. En los experimentos 2 y 3 se realizó polinización manual controlada sobre flores emasculadas de 'Agua Nueva II' utilizando polen colectado de los cultivares polinizadores.

3.1. Experimento 1

En 24 árboles de 'Agua Nueva II' en plena floración se aplicaron los siguientes tratamientos de polinización distribuidos equitativamente en la huerta:

- 1) Árboles con ramos en floración de 'Anna'.
- 2) Árboles con ramos en floración de 'Elba'.
- 3) Árboles en polinización libre (PL), como testigo

En los dos primeros tratamientos los ramos se formaron y colocaron de la siguiente manera:

En la tarde anterior al establecimiento del experimento se cortaron ramas de 'Anna' y 'Elba' de 50 cm de longitud en promedio, las cuales presentaban de 20 a 30 % de flores abiertas. Conforme se cortaron las ramas se colocaron en una cubeta con agua para evitar su marchitamiento. En el sitio del experimento los ramos se constituyeron de 10 a 12 ramas, colocadas en un recipiente de plástico con 1.5 L de

agua. El recipiente con los ramos se colocó y amarró sobre una rama de la parte central del árbol (figura 1).

Los árboles se seleccionaron de acuerdo a su ubicación en la huerta, homogeneidad en el estado fenológico y tamaño de la planta. El experimento se realizó mediante un diseño de Bloques al Azar. Los bloques se formaron de acuerdo al distanciamiento entre árboles: 2 m (cinco bloques); 3 m (dos bloques); 4 m (un bloque). Se estableció mayor número de bloques en el distanciamiento de 2 m entre árboles, debido a que era el más común en la huerta. Este experimento se realizó en la localidad de Tetela de Ocampo, Puebla, en la última semana de febrero de 1997.

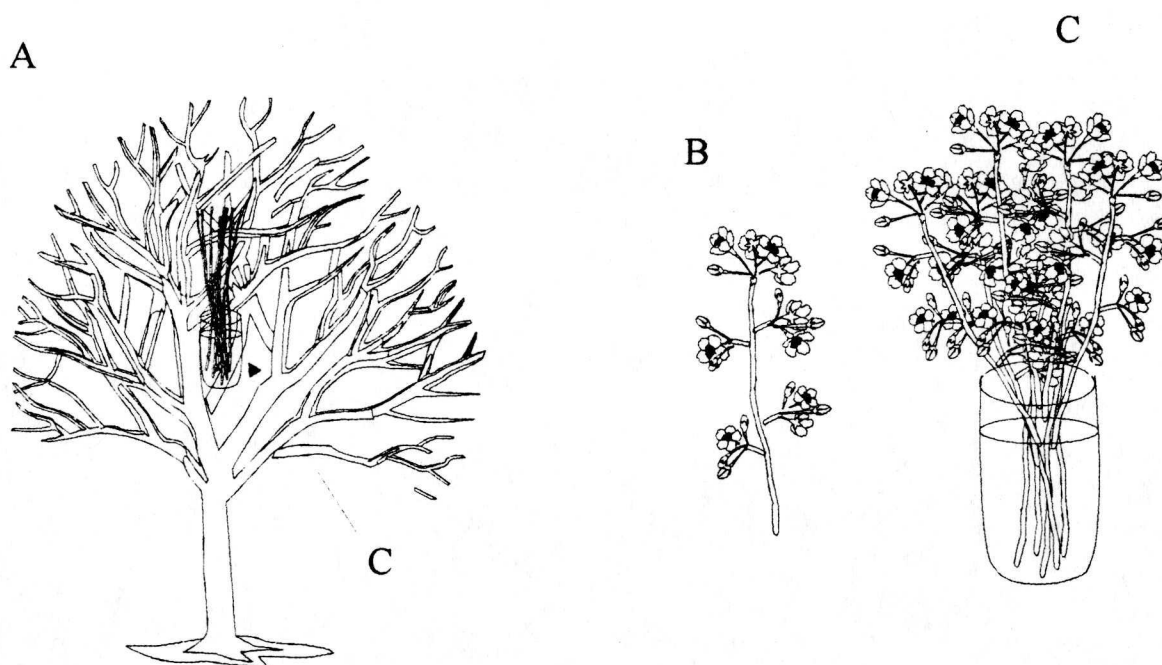


Figura 1. Formación de un ramo de flores de manzano y ubicación del mismo en el árbol. A, Colocación del ramo con el bote de agua en el centro del árbol; B, Rama de manzano en floración; C, Ramo de flores de manzano dentro de un bote con agua.

3.1.1. Efecto sobre el árbol con ramo

El efecto de los tratamientos se evaluó mediante las variables: número de frutos por árbol, producción por árbol, peso de fruto, forma de fruto y número de semillas por fruto. Las últimas tres variables se obtuvieron del promedio de 20 frutos cosechados al azar. Las variables se tomaron de la siguiente manera.

- (1) Número de frutos por árbol. Se contó el total de frutos que llegaron a la madurez por cada árbol en que se aplicó el tratamiento.
- (2) Producción por árbol. Se calculó mediante el número de frutos por árbol y el peso promedio de fruto, expresándose en Kg.
- (3) Peso de fruto. Se le tomó a cada fruto por separado su peso en balanza granataria marca "Ohaus" (USA), y se obtuvo su promedio.
- (4) Forma de fruto. Los frutos se clasificaron visualmente de acuerdo a su forma asignándoles un valor para poder obtener promedio: deformes o asimétricos = 1 y no deformes o simétricos = 2.
- (5) Número de semillas por fruto. Se partieron los frutos, se extrajeron sus semillas y se contaron para obtener el total por cada fruto.

3.1.2. Efecto sobre árboles laterales

Tomando como referencia los árboles donde se colocaron los ramos floreados (árbol central), se evaluaron los tres árboles que se encontraban a ambos lados de éste. Como el distanciamiento entre árboles variaba de acuerdo al bloque establecido, la evaluación de los árboles se realizó estableciendo grupos conformados basándose en su distancia. De esta manera, se establecieron los grupos de 2, 3, 4, 6, 8, 9 y 12 m de distancia del árbol central (figura 2).

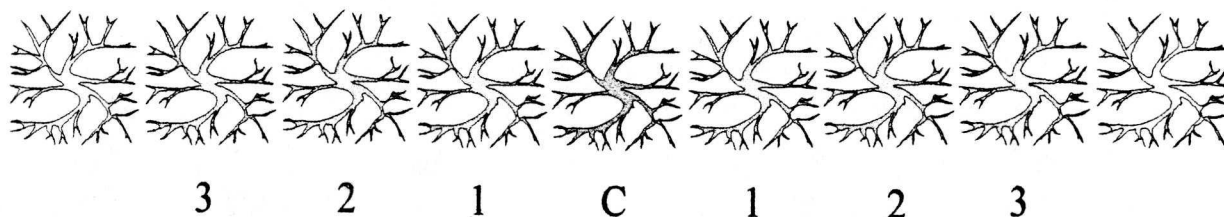


Figura 2. Ejemplo de la distribución de los árboles seleccionados en la aplicación de los tratamientos de polinización con ramos floreados de manzano. C, árbol al que se le colocó el ramo floreado (árbol central); 1, 2, 3, árboles laterales.

En este caso, el efecto de los ramos colocados en el árbol central (C) se evaluó de acuerdo a las variables:

(1) Porcentaje de amarre de frutos, (2) peso de fruto, (3) forma de fruto y (4) número de semillas por fruto. Las dos últimas variables de los frutos se obtuvieron del promedio de 10 frutos cosechados al azar y de la misma manera que en el punto anterior. La primera variable se obtuvo de la siguiente manera:

El porcentaje de amarre de frutos se calculó tomando como 100 % de amarre al observado en el árbol central.

3.2. Experimento 2

En nueve árboles de manzano 'Agua Nueva II', se realizaron los siguientes tratamientos de polinización:

- 1) Polinización manual utilizando polen de 'Anna', polinización cruzada (PC).
- 2) Polinización manual utilizando polen de 'Maayan' (PC).
- 3) Polinización manual utilizando polen de 'Agua Nueva II', autopolinización (AP).
- 4) Polinización libre (PL).

5) Rama cubierta completamente con una tela de tul.

Previo a la aplicación de los tratamientos, se podaron los árboles para eliminar el exceso de ramas y se eliminaron las flores que ya habían abierto con anterioridad y las que se encontraban abiertas, dejando solo aquellas que estaban cerradas y que se abrirían en los siguientes días.

3.2.1. Aplicación de los tratamientos

Los primeros cuatro tratamientos se aplicaron sobre cuatro árboles. Cada tratamiento se aplicó independientemente en una rama y repitiéndolo dos veces por árbol, siendo de esta manera ocho ramas por árbol las utilizadas. El tratamiento 5 se aplicó sobre los cinco árboles restantes.

En las ramas en donde se aplicaron los tratamientos 1, 2 y 3, se emascularon las flores siguiendo la metodología descrita por Layne (1988). Se escogieron flores que se encontraban en estado de globo y se les eliminó la corola con las anteras, por siete días consecutivos marcándose con cordones de diferente color, uno por cada día, para identificarse posteriormente y se anotó el número de flores emasculadas por día. En cada una de las ramas utilizadas se emascularon entre 40 y 95 flores. Uno o dos días después de la emasculación, cuando los estilos estaban extendidos y los estigmas brillosos (estimas receptivos), se aplicó el tratamiento de polinización. El polen se aplicó en los estigmas utilizando la goma de un lápiz; este se introdujo en la bolsa que contenía el polen y se frotó en los estigmas. Una vez que se terminó de aplicar los tratamientos durante los siete días, los botones florales que se iban a abrir en los días siguientes se eliminaron de las inflorescencias para evitar confusiones.

Para el tratamiento 4 simplemente se contaron las flores por cada rama y se dejaron para que se polinizaran naturalmente.

El tratamiento 5 se aplicó de la siguiente manera: Por cada rama del tratamiento se contaron las flores y se cubrieron completamente con tela de tul

evitando dejar algún orificio para impedir el paso de cualquier insecto que fungiera como polinizante. En estas ramas no se aplicó ningún polen, para tomarse como testigo.

En este experimento se utilizó el diseño de experimentos Completamente al Azar, con ocho repeticiones, siendo cada rama una repetición y se estableció en la localidad de Tetela de Ocampo, Puebla entre el 21 y 28 de febrero de 1997.

Antes de realizar las polinizaciones en las flores emasculadas, se le practicó una prueba de germinación a los granos de polen en un medio de cultivo sólido. El medio de cultivo estuvo formulado por ácido bórico (Sigma Chemical, Co B 0252, 99.9 de pureza), 100 ppm, sacarosa (azúcar común) 12 % y agar a 0.7 % (Sigma Chemical, Co A 6549, 99.8 de pureza), adecuado para manzano (Stanley and Linskens, 1974). Los granos de polen se sembraron en la superficie del medio y 2 h después se observaron por medio de microscopio óptico (Zeiss) con el objetivo 40 X y se contaron los granos de polen germinados por campo visual y se obtuvo su porcentaje.

3.2.2. Evaluación de los tratamientos

Treinta días después de la aplicación de los tratamientos, se contaron los frutos amarrados y se calculó el (1) porcentaje de amarre. Al llegar a la madurez los frutos se cosecharon y se obtuvieron las variables: (2) peso y (3) forma del fruto, (4) número de semillas por fruto e (5) Índice de polinización. Las tres primeras variables se tomaron de la misma forma que en el experimento 1 y la última variable se tomó de la siguiente manera:

Índice de polinización. Este índice, que determina la relación entre las semillas formadas y la cantidad de flores polinizadas, se obtuvo dividiendo el numero de semillas formadas en total entre el número de flores polinizadas por cada repetición, de cada tratamiento (Dayton, 1974).

3.3. Experimento 3

En trece árboles de manzano 'Agua Nueva II', se realizaron los siguientes tratamientos de polinización:

- 1) Polinización manual utilizando polen de 'Anna'.
- 2) Polinización manual utilizando polen de 'Maayan'.
- 3) Polinización manual utilizando polen de 'Elba'.
- 4) Polinización manual utilizando polen de 'Agua Nueva II', autopolinización.
- 5) Polinización libre (PL).
- 6) Rama cubierta completamente con una tela de tul.

Previo a la aplicación de los tratamientos, se podaron los árboles para eliminar el exceso de ramas y se eliminaron las flores que ya habían abierto con anterioridad y las que se encontraban abiertas, dejando solo aquellas que estaban cerradas y que se abrirían en los siguientes días.

3.3.1. Aplicación de los tratamientos

Los primeros cinco tratamientos se aplicaron sobre 8 árboles. Cada tratamiento se aplicó independientemente en una rama por árbol, siendo de esta manera cinco ramas por árbol las utilizadas. El tratamiento 6 se aplicó sobre los cinco árboles restantes.

Los tratamientos 1, 2, 3 y 4 se aplicaron de la misma manera que los tratamientos 1, 2 y 3 del experimento 2. El tratamiento 5 se aplicó de la misma forma que el tratamiento 4 del experimento 2. El tratamiento 6 se aplicó de la misma forma que el tratamiento 5 del experimento 2.

En este experimento se utilizó el diseño de experimentos Completamente al Azar, con ocho repeticiones, siendo cada rama una repetición y se realizó en el Campo San Martín de Chapingo, Estado de México, entre el 13 y 21 de marzo de 1997.

3.3.2. Evaluación de los tratamientos

Efecto sobre el desarrollo de los tubos polínicos. El efecto de los tratamientos sobre el desarrollo de los tubos polínicos se evaluó mediante el tiempo que tardaron los primeros tubos polínicos en llegar al ovario a partir de la hora de la polinización y con la presencia o ausencia de inhibición de los mismos dentro del estilo. Para tomar estas variables se siguió la metodología siguiente:

Por cada tratamiento se colectaron 20 flores en cada uno de los siguientes intervalos: 24, 36, 48, 60, 72, 84 y 96 horas después de la polinización y se les separó el estilo y el ovario para meterse en un fijador de tejido denominado FAA, formado con formol (J T Baker, 99.7 de pureza), ácido acético (J T Baker, 99.8 de pureza) y etanol (J T Baker, Co 9000-18, 99.9 de pureza) al 50 %; en una proporción de 5:5:90 v/v. Las muestras se dejaron en el fijador por lo menos 2 h y hasta un máximo de 24 horas. Posteriormente, se lavaron los tejidos sacándolos del FAA y metiéndolos en agua común por cuatro horas y en etanol al 50 y 70 % por 24 h en cada uno en este orden. Al sacar los estilos del etanol 70 %, se metieron en conservador GAA formado por glicerol (J T Baker, Co 2136-02, 99.8 de pureza), agua destilada y etanol (J T Baker, Co 9000-18, 99.9 de pureza) al 50 % (25:25:50 v/v) hasta su observación.

Antes de observarse los estilos, se les dio un proceso de ablandado a los gineceos. Los estilos se sacaron de la solución conservadora GAA y se lavaron, metiéndolos en etanol absoluto por 15 minutos y se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio (J T Baker, Co, 99.9 de pureza) al 5 %, dentro de un frasco de

vidrio con tapa de baquelita. Este frasco se colocó dentro de un autoclave y se sometió a una presión de 15 lb pulg⁻² durante 10 minutos.

Una vez ablandados los gineceos, se disectaron y se separaron los estilos (cada gineceo consta de 5 estilos), se colocaron sobre un portaobjetos, se agregó una gota de colorante lacmoide básico a cada estilo, se colocó un cubreobjetos y se aplastó el tejido.

El colorante lacmoide básico se preparó de la manera siguiente: se hizo una solución de lacmoide (Sigma Chemical, Co) al 5 % en 2-propanol (J T Baker, Co 9084-02, 99.9 de pureza) al 30 % (solución A) y por otra parte una solución de bicarbonato de sodio (J T Baker, Co 3506-01, 100.2 de pureza) al 5 % en 2-propanol al 30 % (solución B, pH = 9.12). En el momento de utilizar el colorante se mezclaron las soluciones A y B por partes iguales. Con este colorante se tiñen los tapones de calosa de color verde-azul (Ramming y Hinrichs 1973). El avance de los tubos polínicos se determinó por medio de las puntas de los primeros tubos observados.

Efecto sobre el amarre y las características de los frutos. Treinta días después de la realización de los tratamientos se contaron los frutos amarrados y se calculó (1) el porcentaje de amarre. Al llegar a la madurez los frutos se cosecharon y se obtuvieron las variables: (2) peso y (3) forma de fruto, (4) número de semillas e (5) Índice de polinización. Las tres primeras variables se tomaron de la misma forma que en el experimento 1 y la última variable se tomó de la misma manera que en el experimento 2.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el experimento 1, el efecto de la polinización sobre el árbol central y sobre los árboles laterales se analizaron los resultados por separado como un diseño de bloques al azar con el modelo:

$$Y_{ij} = M + P_i + B_j + E_{ij}$$

Donde:

Y = Variable respuesta.

M = Media muestral.

P = Tratamiento de polinización.

B = Bloque.

E = Error experimental.

Los experimentos 2 y 3 se analizaron cada uno por separado como un diseño experimental completamente al azar con el modelo:

$$Y_{ij} = M + P_i + E_{ij}$$

Donde:

Y = Variable respuesta.

M = Media muestral.

P = Tratamiento de polinización.

E = Error experimental.

Para conocer la influencia de los diferentes posibles polinizadores del cultivar Agua Nueva II, los datos obtenidos en los experimentos 2 y 3 se analizaron en forma conjunta como una serie de experimentos en completamente al azar, en donde cada serie estuvo conformada por los resultados de una de las localidades, en donde se utilizó el modelo:

$$Y_{ij} = M + P_i + L_j + PL_{ij} + E_{ij}$$

Donde:

Y = Variable respuesta.

M = Media muestral.

P = Tratamiento de polinización.

L = Lugar del experimento.

PL = Interacción entre el tratamiento de polinización y lugar del experimento.

E = Error experimental.

Con los datos de los frutos, se realizó un análisis de correlación entre las variables peso de fruto, diámetro de fruto y número de semillas, en cada una de las comunidades. En el experimento de polinización con ramos de flores, se determinó la correlación entre el número de frutos por árbol y la distancia entre el árbol central y los árboles laterales.

Los análisis estadísticos en cada uno de los diseños, se realizaron mediante el software para microcomputadoras SAS 6.03 (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc.).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. PERIODOS DE BROTAÇÃO FLORAL

1.1. Tetela de Ocampo, Puebla

El inicio de la floración de 'Agua Nueva II' se observó en la primera semana de febrero y su fin en la segunda semana de marzo. Este periodo de floración se traslapó con la de 'Anna' en poca medida, ya que este cultivar inició su floración en la cuarta semana de diciembre y finalizó en la segunda semana de febrero (figura 3).

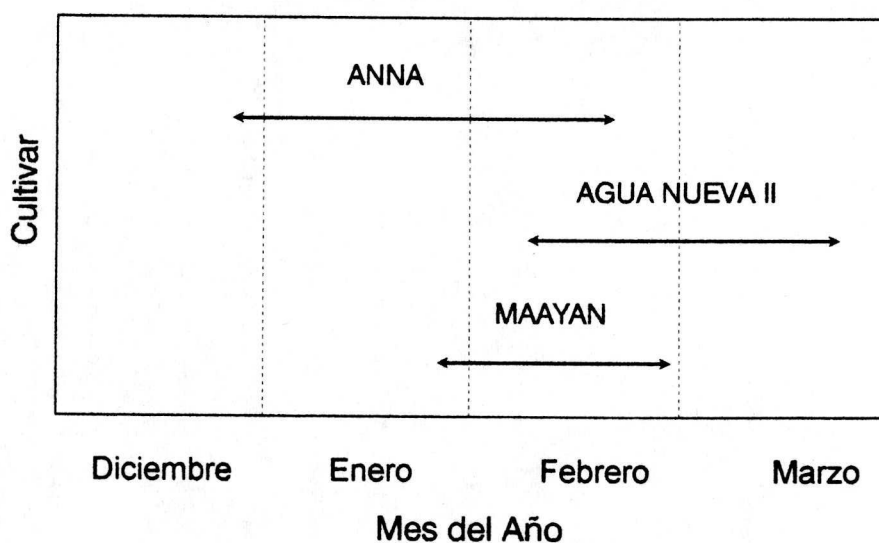


Figura 3. Periodos de floración de tres cultivares de manzana (*Malus domestica* Borkh) en la población de Tetela de Ocampo, Puebla, durante el invierno de 1996-1997.

Sin embargo, 'Agua Nueva II' presentó mayor traslape con la floración de 'Maayan', pues su floración inició en la tercera semana de enero y finalizó en la tercera semana de febrero (figura 3), observándose este cultivar con mayor potencial como polinizador de 'Agua Nueva II'.

1.2. Campo Experimental San Martín

El cultivar Agua Nueva II, inició su floración en la segunda semana de febrero y finalizó en la segunda semana de marzo. La floración de 'Elba', mostró un buen traslape con el de 'Agua Nueva', ya que inició unos días después, en la segunda semana de febrero y finalizó en la primera semana de marzo (figura 4).

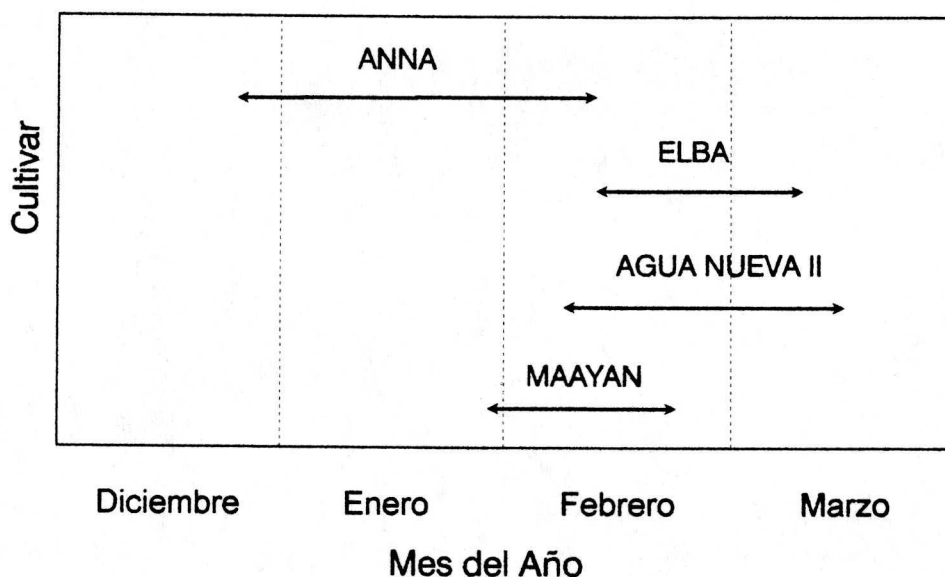


Figura 4. Periodos de floración de tres cultivares de manzana (*Malus domestica* Borkh) en el Campo Experimental San Martín, Texcoco, Estado de México, durante el invierno de 1996-1997.

'Maayan', mostró menor traslape de la floración, iniciándola en la cuarta semana de enero y finalizándola en la tercera semana de febrero. La floración de 'Anna', coincidió muy poco con la de 'Agua Nueva II' (figura 4). Por la cantidad de traslape de floración con 'Agua Nueva II', los cultivares con mayor potencial como polinizadores fueron 'Elba', seguido por 'Maayan', mientras que 'Anna' no ofrece mucha garantía de coincidencia de floración.

El cultivar Anna, en ambas localidades, presentó un periodo de floración similar en su inicio en comparación con el periodo observado por Armas (1985) en el área de Chapingo, pero menos prolongado, ya que este autor observó la floración de 'Anna' hasta el mes de abril. Por su parte, 'Maayan' presentó el inicio de la floración en las mismas fechas observadas por Raya (1986) y Grijalva (1988) en la misma área de Chapingo; sin embargo, el periodo de floración fue menor, pues estos autores mencionan su fin en la segunda quincena de marzo. El periodo de floración de estos dos cultivares, tomando en cuenta los observados por los anteriores autores, puede considerarse de poca variación en su inicio a lo largo de los años, pero variante en la duración del mismo,

La floración de 'Anna', 'Maayan' y 'Agua Nueva II' en el Campo San Martín se observó unos días más tarde en comparación con los mismos cultivares establecidos en Tetela de Ocampo y en algunos casos como en el de 'Anna', menor traslape de la floración con 'Agua Nueva II'. La floración del manzano, de acuerdo al cultivar, puede verse influenciada en la fecha de su presentación, de acuerdo a la latitud en que se establezca dicho cultivar, y afectar en cierto momento la coincidencia de dos cultivares distintos. Estas alteraciones de la floración en diversos casos pueden presentarse en una misma localidad a lo largo de los años (Faust, 1989).

2. EXPERIMENTO 1. POLINIZACIÓN CON RAMOS

En los árboles de 'Agua Nueva II', donde se colocaron los ramos de flores de manzano se observó una marcada diferencia con PL en las diferentes variables. El

número total de frutos por árbol producidos en los árboles con ramos fueron estadísticamente muy superiores ($r^2 = 0.6066$, $\alpha = 0.0001$, $CV = 41.91$) en comparación con PL (cuadro 1), sin observarse diferencia estadística entre 'Elba' y 'Anna' como polinizadores, aunque el primero presentó mayor número total de frutos por árbol (cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de los tratamientos de polinización con ramos de los cultivares de manzano (*Malus domestica* Borkh) Anna y Elba sobre la producción de fruto y sus características, de 'Agua Nueva II' en Tetela de Ocampo, Puebla.

Variable	Tratamiento de Polinización.			
	Ramos de 'Anna'	Ramos de 'Elba'	Polinización Libre	DMS
Número Total de Frutos por Árbol.	287.6 a	302.4 a	19.7 b	87.07
Producción por árbol (Kg)	25.8 a	25.6 a	1.7 b	2.7
Peso Promedio por Fruto (g)	89.7 a	84.6 a	85.3 a	6.95
Forma del Fruto ^A .	1.75 a	1.76 a	1.44 b	0.12
Número de Semillas por Fruto	3.6 b	5.0 a	1.0 c	0.54

^A Frutos deformes (asimétricos) = 1; frutos bien formados (simétricos) = 2.
Misma letra en la misma fila, son estadísticamente similares. Tukey, $\alpha \leq 0.05$.

La producción de frutos por árbol presentó la misma tendencia que el número de frutos, mostrando también mayor efecto de la polinización con ramos de cualquier cultivar sobre la polinización libre ($r^2 = 0.6451$, $\alpha = 0.0001$, $CV = 42.27$) y sin que se encontrara alguna diferencia entre los dos cultivares polinizadores (cuadro 1).

Tomando en cuenta las distancias de establecimiento en la huerta (de 333.33 a 666.66 árboles por ha) y la producción de fruto por árbol de los tratamientos de polinización con ramos de 'Anna' y 'Elba', el potencial de producción de fruto por ha

se estima entre 8.6 a 17.2 toneladas, que en comparación con la producción estimada con polinización libre (de 556.66 a 1,133.66 kg por ha), es muy superior.

En las características de los frutos obtenidos, se observaron diferencias estadísticas de acuerdo a los tratamientos en las variables forma de fruto ($r^2 = 0.1603$, $\alpha = 0.0001$, $CV = 26.50$) y número de semillas por fruto ($r^2 = 0.4441$, $\alpha = 0.0001$, $CV = 57.07$). En los árboles en donde se colocó el ramo de flores, se presentó mayor número de frutos sin deformación con respecto de los árboles de PL; de la misma manera, en los árboles con ramos, los frutos presentaron mayor número de semillas (cuadro 1). Entre los dos cultivares utilizados como polinizadores, se observó a 'Elba' como mejor con respecto a 'Anna', al presentar mayor cantidad de frutos no deformes y mayor cantidad de semillas por fruto.

Sobre diversos cultivares de manzano, aunque exista la polinización con cultivares totalmente compatibles, es frecuente la existencia de frutos torcidos o mal formados, influenciado por la falta de formación de semillas, entre dos y tres por fruto, atribuido a la falta de polinización (Way, 1978). Brault y De Oliveira (1995), observaron una correlación entre el número de semillas bien formadas y la asimetría del fruto ($r = 0.33$, $P < 0.0001$), y encontraron que los frutos con menor cantidad de semillas presentaron mayor asimetría, debido a la desigualdad en la difusión de las auxinas por el menor número de semillas en el fruto.

En el peso de fruto no se observaron diferencias estadísticas ($r^2 = 0.4559$, $\alpha = 0.05$, $CV = 28.73$) entre los árboles con ramos de flores de 'Anna' y 'Elba', con respecto a la PL, ni de una tendencia con respecto a estos tratamientos de polinización (cuadro 1). A diferencia de las bayas que tienen muchas semillas, los frutos pomáceos no se ven muy influenciados en su peso por el número de semillas, ya que en muchos casos solo basta una semilla o inclusive ninguna para estimular el desarrollo del fruto y que este se desarrolle normalmente (Faust, 1989); de esta forma, aunque se encontró diferencia en el número de semillas por fruto entre los

tratamientos de polinización, no se espera que también deba existir alguna diferencia entre el peso de fruto.

2.1. Efecto Sobre Árboles Laterales

El efecto de los ramos de flores sobre la producción de fruta de los árboles de 'Agua Nueva', fue similar, con respecto al tipo de cultivar utilizado ($r^2 = 0.6459$, $\alpha = 0.0001$, CV= 40.13) (cuadro 2).

Cuadro 2. Efecto de la distancia entre los árboles laterales y el árbol con ramos de 'Anna' y 'Elba' sobre el amarre de frutos y sus características de 'Agua Nueva II', en Tetela de Ocampo, Puebla.

Distancia (m) entre el árbol lateral y el árbol con ramos.	Fuente de polen	Variable		
		Porcentaje de Amarre de fruto	Peso por Fruto	Número de Semillas por fruto
2	Anna	70.56 ab	86.8 ab	2.00 abc
	Elba	77.22 a	84.8 ab	2.90 ab
3	Anna	46.25 abcde	107.9 a	2.50 abc
	Elba	70.00 ab	101.7 a	2.97 a
4	Anna	53.75 abc	84.3 ab	1.78 abc
	Elba	62.42 abc	88.3 ab	1.94 abc
6	Anna	31.43 cdef	92.6 ab	1.52 c
	Elba	40.00 bcdef	93.4 ab	1.59 bc
8	Anna	11.50 ef	53.1 c	1.20 c
	Elba	50.00 abcd	90.2 ab	1.43 c
9	Anna	12.50 ef	107.8 a	1.72 abc
	Elba	11.25 ef	99.0 ab	1.28 c
12	Anna	9.00 f	80.1 abc	1.60 bc
	Elba	15.00 def	69.6 bc	1.40 c

Mismas letras en la misma columna, son estadísticamente similares. Tukey, $\alpha \leq 0.05$.

La cantidad de frutos amarrados estuvo influenciada por la distancia de los árboles laterales con respecto del árbol con ramos (central). El porcentaje de amarre de los árboles laterales fue disminuyendo conforme se ubicaban más lejos de la fuente de polen (cuadro 2), mostrando diferencias estadísticas entre los árboles laterales más próximos al árbol central y los que se encontraban a más de 4 m del mismo ($r^2 = 0.8737$, $\alpha = 0.0001$, $CV = 42.18$). Esta respuesta del amarre de frutos, se vio influenciada también por la distancia de establecimiento de los árboles (figuras 5 y 6). En los árboles con ramos de 'Anna', el primer y segundo árbol del distanciamiento de 2 m presentaron similares porcentajes de amarre en comparación con los árboles distanciados a 3m, y mayores porcentajes en comparación con los árboles distanciados a 4 m (figura 5).

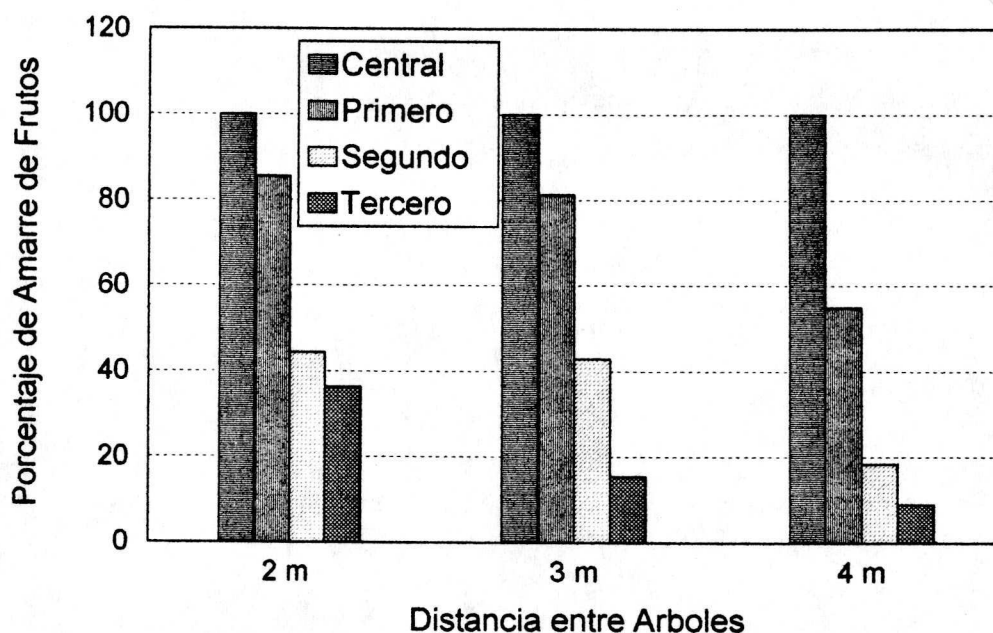


Figura 5. Efecto del distanciamiento entre los árboles laterales y el árbol con ramas floreadas del cultivar Anna, sobre el amarre de frutos del cultivar Agua Nueva II (*Malus domestica* Borkh) en tres distancias entre árboles, en Tetela de Ocampo, Puebla. Primero, árbol más próximo al árbol central; Tercero, árbol más lejano del árbol central.

El tercer árbol del distanciamiento de 2 m presentó mayor porcentaje de amarre de frutos en comparación del tercer árbol en los distanciamientos de 3 y 4 m (figura 5).

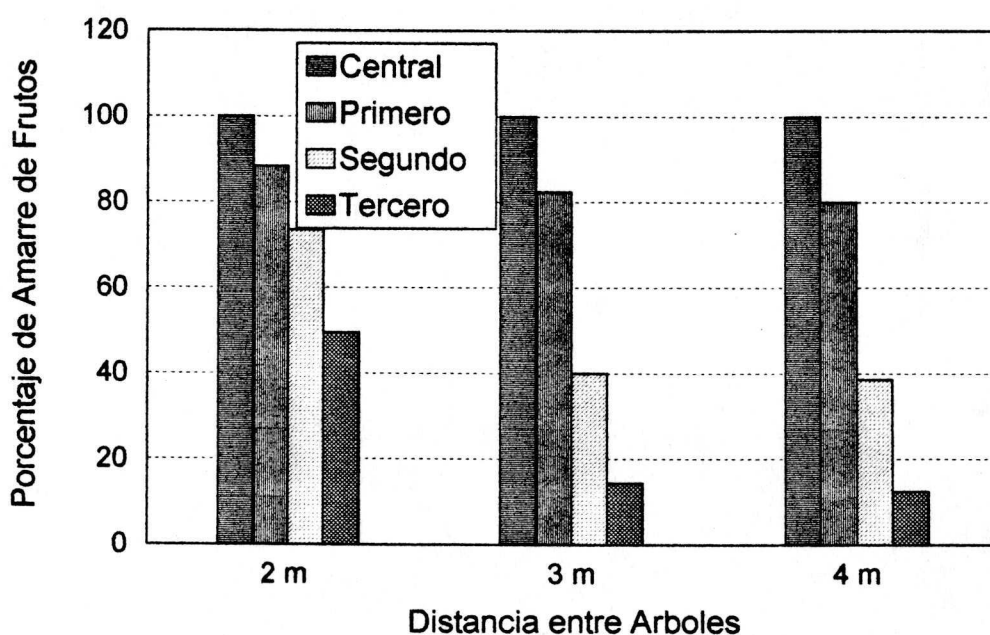


Figura 6. Efecto del distanciamiento entre los árboles laterales y el árbol con ramas floreadas del cultivar Elba, sobre el amarre de frutos del cultivar Agua Nueva II (*Malus domestica* Borkh) en tres distancias entre árboles, en Tetela de Ocampo, Puebla. Primero, árbol más próximo al árbol central; Tercero, árbol más lejano del árbol central.

En los árboles con las ramas de 'Elba' se observó que el primer árbol lateral de los distanciamientos de 2, 3 y 4 m presentaron similares porcentajes de amarre, mientras que el segundo y tercer árboles del distanciamiento a 2 m presentaron mayor porcentaje de amarre de frutos en comparación de los que se encontraban a 3 y 4 m de distanciamiento entre árboles (figura 6).

Al igual que el amarre de fruto, la cantidad de semillas por fruto, fue influenciada por la distancia entre los árboles laterales y el árbol central ($r^2 = 0.5002$, $\alpha = 0.0001$, $CV = 31.36$). En los árboles más cercanos al árbol central, se observó mayor cantidad de semillas formadas por fruto en comparación a los árboles laterales más distanciados del árbol central (cuadro 2). El peso promedio de los frutos en los árboles laterales, no se vio muy influenciado por su distanciamiento del árbol central, siendo las diferencias estadísticas menores ($r^2 = 0.7029$, $\alpha = 0.0001$, $CV = 14.93$).

Entre el número de frutos por árbol lateral se correlacionó negativamente con la distancia de estos al árbol central (fuente de polen; mientras más distanciados estaban éstos del árbol central fue menor la cantidad de frutos que amarraron (figura 7).

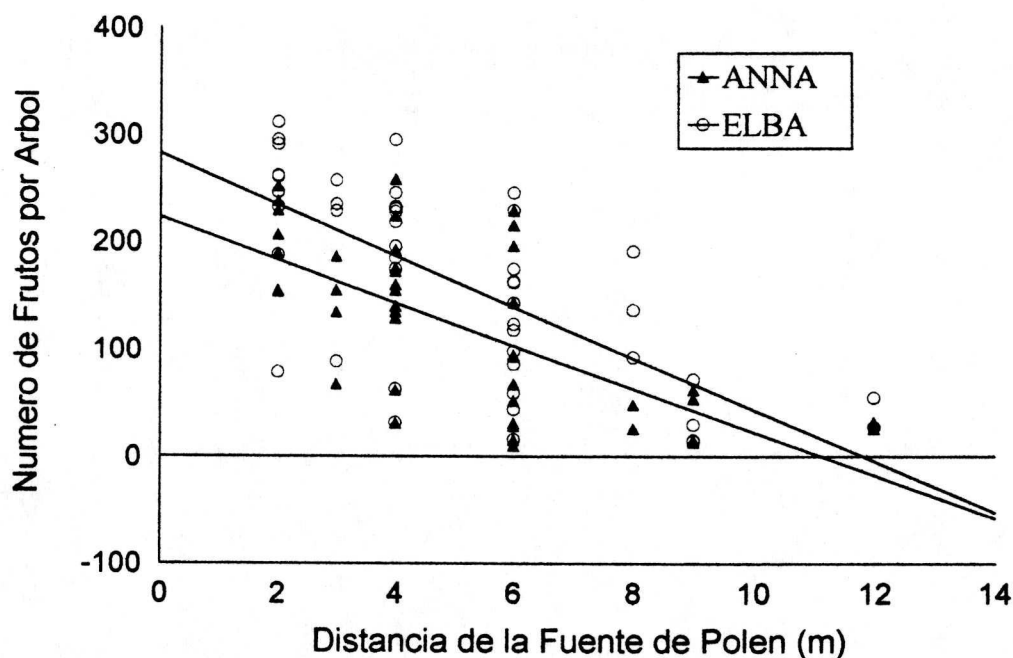


Figura 7. Correlación entre el número de frutos por árbol y la distancia entre estos y el árbol central (fuente de polen) del cultivar Agua Nueva II con dos fuentes de polen, en Tetela de Ocampo, Puebla. 'Anna' ($r = -0.6221$, $\alpha = 0.0001$), 'Elba' ($r = -0.7101$, $\alpha = 0.0001$).

Ramírez y Cepeda (1993) recomendaron que en una plantación se establezca una hilera del cultivar polinizador por cada cuatro del cultivar principal, o sí se establece en el sistema de tresbolillo, se debe establecer un árbol del cultivar polinizador separado por cada tres árboles del cultivar principal. (Maggs *et al.*, 1971) observó que la distancia máxima entre árboles polinizadores debe ser de 10 m para obtener una producción homogénea por árbol.

3. EXPERIMENTO 2. POLINIZACIÓN MANUAL EN TETELA DE OCAMPO

3.1. Germinación de los Granos de Polen

La germinación *in vitro* de los granos de polen frescos en todos los cultivares fue buena en las primeras horas después de la apertura floral (6 a 12 horas después), entre 69 en 'Agua Nueva II' y 78 % en 'Elba' (figura 8).

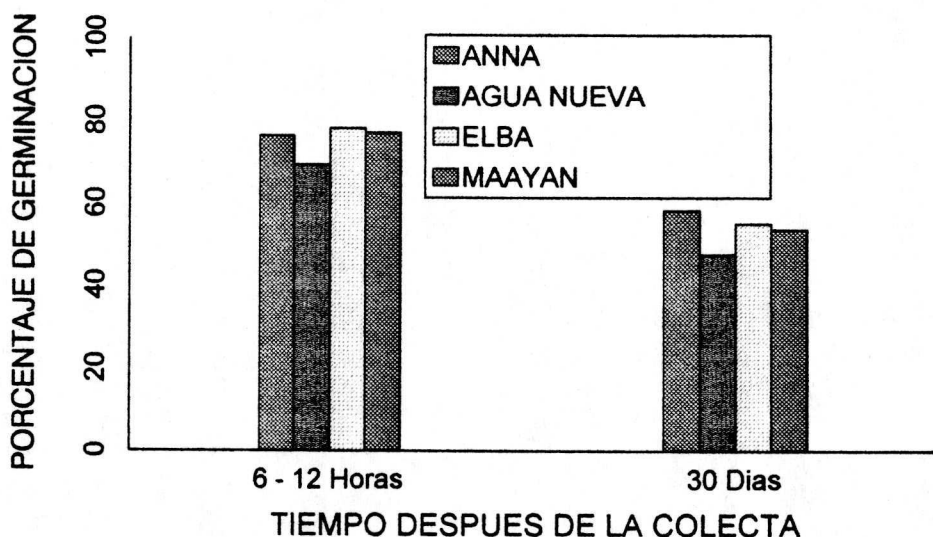


Figura 8. Porcentaje de germinación *in vitro* de granos de polen de cuatro cultivares de manzano (*Malus domestica* Borkh) colectados en el Campo San Martín, Texcoco, Edo de México, después de la colecta (6 – 12 horas) y después de 30 días en refrigeración a 5° C.

Treinta días después de la colecta, los granos de polen germinaron *in vitro*, aunque en menor grado, reduciéndose su germinación en 25 % en promedio (figura 8). Estos resultados en la germinación de los granos de polen fueron menores en comparación con los observados por Montalti y Filiti (1984) en 'Golden Delicious' (72.1 %) y en 'Starkrimson' (89.3 %), que en apariencia muestra que la capacidad de germinación del polen de 'Agua Nueva II', 'Anna', 'Elba' y 'Maayan' no es limitante para el amarre de frutos.

3.2. Efecto Sobre el Amarre de Frutos y Sus Características

En el porcentaje de amarre de frutos se observaron diferencias estadísticas entre los tratamientos de polinización manual, polinización libre y las ramas cubiertas con tela de tul ($r^2 = 0.4830$, $\alpha = 0.0001$, $CV = 151.34$) (figura 9).

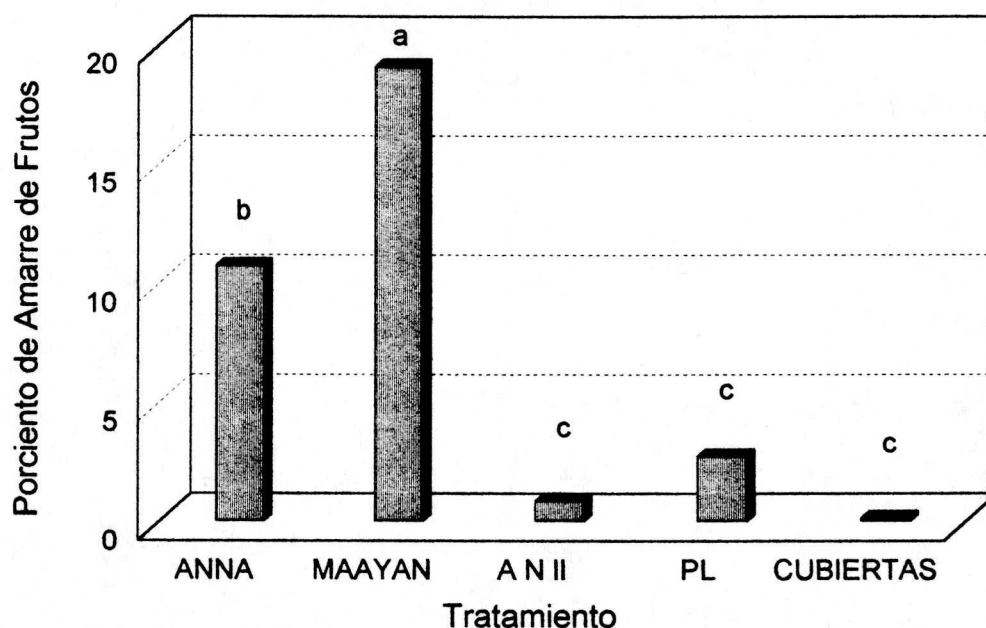


Figura 9. Efecto de la polinización manual sobre el amarre de frutos en el cultivar Agua Nueva II, al usar polen de los cultivares Anna, Maayan, Agua Nueva II (autopolinización), polinización libre (PL) y flores cubiertas con tela de tul en Tetela de Ocampo, Puebla. Mismas letras son estadísticamente similares, Tukey $\alpha \leq 0.05$.

Cuando se colocó polen de 'Anna' o 'Maayan' sobre los estigmas de las flores de 'Agua Nueva II', se obtuvieron porcentajes de amarre muy superiores en comparación a la polinización con su mismo polen, PL (figura 9). Entre los dos cultivares utilizados en la polinización manual, no se observó diferencia estadística (Tukey, $\alpha \leq 0.05$) (cuadro 3). En las flores cubiertas se observó un incipiente amarre de frutos, menor de 0.11 %, debido a que estas flores se autopolinizaron solas y no hubo oportunidad de recibir polen de otro cultivar al permanecer aisladas de la visita de agentes polinizantes.

Cuadro 3. Efecto de la fuente de polen sobre la producción de fruto y sus características del cultivar de manzano (*Malus domestica* Borkh) Agua Nueva II, bajo polinización manual en Tetela de Ocampo, Puebla.

Variable	Polinización Manual con Polen de:					
	'Anna'	'Maayan'	'Agua Nueva II'	Polinización Libre	Ramas Cubiertas	DMS
Porcentaje de Amarre	10.69 b	19.04 a	0.84 cd	2.73 c	0.11 d	6.55
Peso de Fruto	87.27 ab	89.06 ab	72.48 b	93.66 a	91.14 a	40.67
Forma de Fruto ^A	1.61 a	1.69 a	1.4 a	1.71 a	1.0 a	0.71
# de Semillas por fruto	3.21 ab	4.30 a	2.6 ab	1.46 b	0.25 c	3.11
Índice de Polinización ^B	0.26 b	0.63 a	0.05 b	0.05 b	0.001 c	0.28

^A Frutos deformes (asimétricos) = 1; frutos bien formados (simétricos) = 2.

^B Índice de Polinización = Número de semillas / flores polinizadas.

Mismas letras en la misma hilera, son estadísticamente similares. Tukey, $\alpha \leq 0.05$.

Los porcentajes de amarre de frutos en polinización manual en 'Agua Nueva II', utilizando polen de otro cultivar (14.93 % en promedio), fueron similares a los presentados por Rejman (1983) en el cultivar de manzano Close, cultivar común en

Polonia (14.53 % en promedio), utilizando también la polinización manual con polen de cuatro cultivares diferentes de manzano; por Visser (1983) en cuatro cultivares locales de Holanda, de naturaleza autoincompatible, bajo la polinización cruzada (19.7 % en promedio); por Spiegel-Roy y Alston (1982) en los cultivares Malling Greensleeves (18.73 %), 'Malling Kent (21.34 %), Cox (21.11 %) y Suntan (21.51 %), utilizando cinco fuentes diferentes de polen en cada uno; y por Schupp y Koller (1997), en el cultivar Macspur McIntosh (8.0 %), utilizando polen del cultivar Delicious.

En el peso de los frutos obtenidos no se encontró alguna diferencia estadística ($r^2 = 0.4830$; $\alpha = 0.05$; CV= 30.08) entre los diferentes tratamientos de polinización (cuadro 3).

La forma de los frutos observados fueron similares estadísticamente ($r^2 = 0.2083$, $\alpha = 0.05$; CV= 27.99) entre los diferentes tratamientos de polinización (cuadros 3). En todos los tratamientos se observaron frutos deformes o asimétricos, sin observarse alguna tendencia clara con relación al tipo de polinización utilizada. Brault y De Oliveira (1995), mencionaron que el grado de asimetría de los frutos de manzano esta correlacionado con la formación de semillas normales: cuando disminuye el número de semillas bien formadas, aumenta el grado de asimetría de los frutos.

En el número de semillas por fruto se observaron diferencias estadísticas ($r^2 = 0.2934$, $\alpha = 0.0001$; CV= 55.73) por efecto de los tratamientos; la polinización manual utilizando polen de 'Maayan' o 'Anna' presentó respuesta similar entre sí y superior en comparación con la polinización manual utilizando el polen de 'Agua Nueva II' y polinización libre (cuadro 3).

En el índice de polinización se observaron diferencias estadísticas ($r^2 = 0.6552$; $\alpha = 0.0001$; CV= 83.06) por efecto de los tratamientos de polinización. La polinización manual realizada con polen de 'Maayan' presento el mayor valor del

índice de polinización, con respecto de los demás tratamientos de polinización y PL (cuadro 3).

Los valores del índice de polinización observados en el presente trabajo, aunque son menores a los observados por Williams y Church (1978), en un cultivar de manzano autoincompatible al utilizar polinización cruzada (3.52); por Dayton (1974) en varios cultivares de manzano autoincompatible en la polinización cruzada (1.42) y por Visser (1981) en cuatro cultivares de manzano bajo polinización cruzada (1.05), y similares a los observados por Visser (1983) en cuatro cultivares de manzano (0.76) también en polinización cruzada. Los índices de polinización observados en las flores donde se aplicó la autopolinización, presentaron similitud con los observados por Dayton (1974) en varios cultivares autoincompatibles (0.04); por Williams y Church (1978), en un cultivar autoincompatible (0.08), por Visser (1981) y (1983) en cuatro cultivares de manzano de naturaleza autoincompatible (0.03 y 0.02, respectivamente).

4. EXPERIMENTO 3. POLINIZACIÓN MANUAL EN EL CAMPO SAN MARTÍN

4.1. Efecto Sobre el Amarre de Frutos y Sus Características

En esta localidad, el porcentaje de amarre se presentó la misma tendencia que en el experimento 2, encontrándose diferencias estadísticas ($r^2 = 0.5304$, $\alpha = 0.0001$, $CV = 165.58$) entre los tratamientos de polinización aplicados a las ramas de 'Agua Nueva II'. La polinización manual, cuando se utilizó polen de 'Anna', 'Elba' o 'Maayan', presentó porcentajes de amarre muy superiores en comparación de cuando se utilizó el polen de 'Agua Nueva II' (AP) y PL (figura 10). Entre los tres cultivares utilizados en la polinización manual, no se encontró diferencia estadística (cuadro 4). Las ramas cubiertas con tela de muselina no presentaron formación de fruto, debido a que no tuvieron la oportunidad de recibir polen de algún cultivar diferente, por lo que solo se pudieron autopolinizar solas dando como resultado la caída de las flores, como se observó en la AP manual.

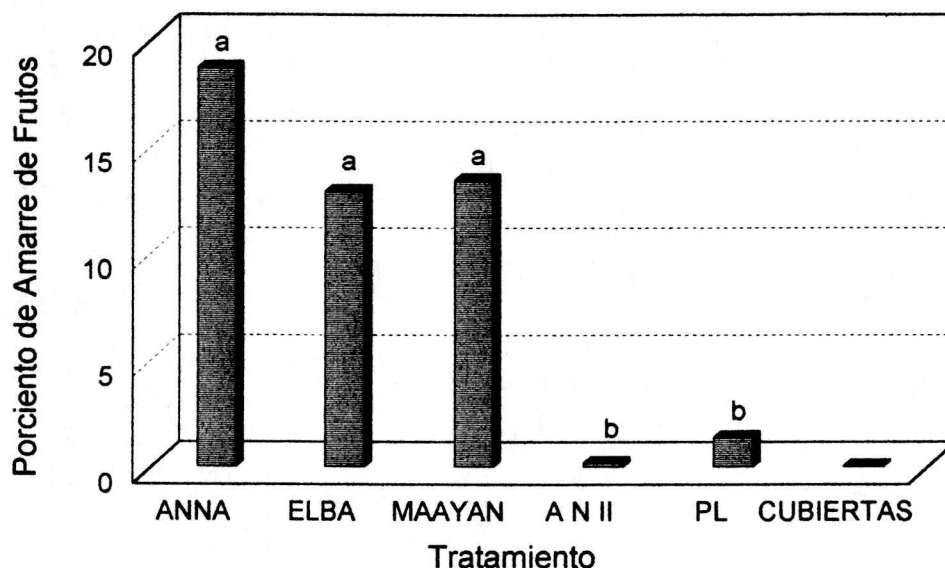


Figura 10. Efecto de la polinización manual sobre el amarre de frutos en el cultivar Agua Nueva II, al usar polen de los cultivares Anna, Elba Maayan, Agua Nueva II (autopolinización), polinización libre (PL) y flores cubiertas con tela de tul en el Campo San Martín, Texcoco Estado de México. Misma letra son estadísticamente similares, Tukey $\alpha \leq 0.05$.

En el peso de los frutos obtenidos no se encontró alguna diferencia estadística ($r^2 = 0.5305$; $\alpha = 0.05$; $CV = 38.17$) entre los diferentes tratamientos de polinización (cuadro 4). Sin embargo, en los tratamientos de polinización cruzada, se observó una variación de acuerdo a la fuente de polen, siendo mayores los frutos polinizados con 'Elba' en comparación con los generados con el polen de 'Anna'; una respuesta similar la observó Rejman (1983) en el manzano cv. Close, donde las flores polinizadas con 'Jerseymac', produjeron frutos con 20 % más peso que los frutos de flores polinizadas con 'Starking'. Aunque el tamaño de fruto de las especies pomáceas no es fuertemente influenciado por el número de semillas, existe una ligera correlación entre el peso del fruto y el número de semillas (Faust, 1989); por lo que puede presentarse estas respuestas en algunos casos.

Cuadro 4. Efecto de la fuente de polen sobre la producción de fruto y sus características del cultivar de manzano (*Malus domestica* Borkh) Agua Nueva II bajo polinización manual en el Campo Experimental San Martín, Chapingo, Estado de México.

Variable	Polinización Manual con Polen de:						
	'Anna'	'Elba'	'Maayan'	'Agua Nueva II'	Polinización Libre	Ramas Cubiertas	DMS
Porcentaje de Amarre	18.66 a	12.86 a	13.40 a	0.15 b	1.34 b	0	6.96
Peso de Fruto	31.41 a	33.59 a	30.15 a	52.5 a	46.05 a	-	22.99
Forma de Fruto ^A	1.67 a	1.65 a	1.59 a	1.00 a	1.81 a	-	0.89
# de Semillas por Fruto	3.91 a	3.64 a	2.60 a	2.00 a	1.63 a	-	2.65
Índice de Polinización ^B	0.86 a	0.70 a	0.44 ab	0.00	0.02 b	0	0.67

^A Frutos deformes (asimétricos) = 1; frutos bien formados (simétricos) = 2.

^B Índice de Polinización = Número de semillas / flores polinizadas.

Mismas letras en la misma hilera, son estadísticamente similares. Tukey, $\alpha \leq 0.05$.

Entre los diferentes tratamientos de polinización los frutos fueron similares estadísticamente en su forma ($r^2 = 0.0981$; $\alpha = 0.05$; CV= 29.35) (cuadro 4); en todos los tratamientos se observaron frutos deformes o asimétricos.

También se observó una gran variación en la cantidad de semillas formadas en los frutos, sin que se observara alguna diferencia estadística ($r^2 = 0.2672$, $\alpha = 0.05$; CV= 56.50); sin embargo, se observó una tendencia de formar más semillas por fruto en los tratamientos de polinización manual, en especial cuando se utilizó polen de 'Anna', 'Elba' o 'Maayan' a diferencia del polen del mismo 'Agua Nueva II' (cuadro 4). Rejman (1983), en 'Close', observó una respuesta similar; donde el número de semillas formadas por fruto al realizar polinización manual, utilizando polen de un

cultivar diferente (2.36 en promedio) fue superior al formado en polinización libre (1.88). También Visser (1983), en cuatro cultivares de manzano observó mayor número de semillas por fruto en la polinización cruzada (3.86) en comparación con la autopolinización (2.41)."

En el índice de polinización se observaron diferencias estadísticas ($r^2 = 0.3919$; $\alpha = 0.005$; $CV = 113.92$) por efecto de los tratamientos de polinización. La polinización manual realizada con polen de 'Anna', seguida de las realizadas con polen de 'Elba' y 'Maayan', presentaron los mayores índices de polinización y superiores a la realizada con polen del mismo 'Agua Nueva II' y PL (cuadro 4).

4.2. Desarrollo del Tubo Polínico

En las flores del 'Agua Nueva II' se observaron diferentes respuestas en el desarrollo de los tubos polínicos, dependiendo del tratamiento de polinización realizado. En los estilos con cualquiera de los tratamientos de polinización manual se observó menor cantidad de granos de polen en el estigma en comparación con los estilos de las flores de polinización libre, así como en la cantidad de granos de polen germinados. Spiegel-Roy y Alston (1982) en los manzanos 'Malling Kent', 'Malling Greensleeves', 'Cox' y 'Suntan' encontraron una respuesta similar, ya que también observaron mayor cantidad de granos de polen en el estilo de las flores de polinización libre en comparación con las de polinización manual, utilizando polen de cuatro cultivares diferentes. Durante la polinización libre las flores permanecen expuestas y mientras presenta la liberación del polen son atractivas a los insectos polinizantes, teniendo en el caso del manzano varios días en los que pueden ser polinizados por estos (Griggs, 1970; Ishiyama *et al.*, 1995); en el caso de las flores polinizadas manualmente, al haberse eliminado la corola con las anteras ya no son atractivas para los insectos polinizantes y solo el polen que se aplicó manualmente permanece en el estilo (Layne, 1988).

Cuando se realizó la polinización manual utilizando polen de 'Anna', 'Elba' o 'Maayan', a 24 h después de realizada la polinización, las puntas de los primeros tubos polínicos se desarrollaron hasta dos tercios del estilo y a 36 h después de la polinización ya habían entrado en el ovario. En las polinizaciones realizadas con estos cultivares, se observaron pocos tubos polínicos con la parte de la punta en forma curva. La velocidad de desarrollo de los tubos polínicos observada en estas cruces (4.8 mm por 24 h), concuerda con el índice de desarrollo del tubo polínico establecida por Williams y Wilson (1970). Durante el periodo en que se realizó la polinización de las flores colectadas para el estudio del desarrollo de los tubos polínicos, entre el 13 y 21 de marzo, en la estación climática Chapingo, se registraron temperaturas medias entre 20 y 16° C; de acuerdo a la tabla de índice de desarrollo de tubo polínico establecida por Williams y Wilson (1970) con estas temperaturas se esperaba que los tubos polínicos llegarían a la cavidad ovárica en menos de 48 h.

En la polinización manual, utilizando el polen del mismo 'Agua Nueva II', a 24 h después de realizada la polinización se observó menor cantidad de tubos polínicos desarrollados hasta la primera mitad del estilo y a 36 h después de la polinización los tubos polínicos solo desarrollaron hasta los dos primeros tercios. Posteriormente, a mayor tiempo después de la polinización (48 a 96 h), se observó el desarrollo de los tubos polínicos hasta dos tercios del estilo.

Ocasionalmente, en algunos estilos en donde se realizó la autopolinización se observó uno o dos tubos polínicos que desarrollaron hasta el ovario. En los cultivares Cox y Suntan, Spiegel-Roy y Alston (1982) observaron una respuesta similar de desarrollo de los tubos polínicos en los estilos de flores autopolinizadas; en cada uno de estos dos cultivares observaron hasta 100 tubos polínicos dentro del estigma y parte superior del estilo, pero solo de dos a cinco tubos polínicos desarrollaron hasta cerca del ovario.

En los esquemas de desarrollo e inhibición de los tubos polínicos de manzano señalados por Dutova *et al.*, (1984) al realizar la autopolinización de 610 cultivares,

se observó una similitud entre uno de ellos y el observado en el presente trabajo al realizar la autopolinización de 'Agua Nueva II'. Este autor observó que en diversos cultivares, los tubos polínicos solo desarrollaron hasta la mitad o los dos primeros tercios del estilo. En este tipo de respuesta de inhibición de los tubos polínicos también observó que algunos de ellos (de uno a cinco), llegaron hasta la base del estilo.

La autoincompatibilidad en los cultivares de manzano comercial es menos consistente que en los cultivares diploides de cerezo y almendro, pudiendo variar de año con año o entre diferentes localidades (Faust, 1989). El cultivar Cox's Orange Pippin, en la mayoría de los casos se comporta como un material autoincompatible, pero ocasionalmente, en algunas localidades, produce buena cantidad de amarre de frutos al realizar la autopolinización, similar a un cultivar autocompatible (Williams y Maier, 1977).

El cultivar Golden Delicious, de donde se originó 'Agua Nueva II', ha sido reportado por diversos autores como un material autoincompatible al realizar la autopolinización. Westwood (1982), Visser (1983), Bergamini *et al.*, (1986), Ishiyama *et al.*, (1995), mientras que Griggs (1970), Smykov y Popov (1984), Niu *et al.*, (1994), lo observaron como parcialmente autocompatible (entre 2 y 16 % de formación de fruto con auto-polinización).

5. COMPARACIÓN ENTRE LAS DOS LOCALIDADES

El porcentaje de amarre observado en las dos localidades, no presentó diferencias estadísticas ($r^2 = 0.4850$, $\alpha = 0.0001$, $CV = 162.76$), aunque en el Campo San Martín, se observó un porcentaje de amarre ligeramente mayor en comparación del observado en Tetela de Ocampo (cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto de la localidad sobre la producción de fruto y sus características del cultivar de manzano (*Malus domestica* Borkh) Agua Nueva II bajo polinización manual y polinización libre, durante 1997.

Variable	Polinización Manual con Polen de:		
	Tetela de Ocampo, Puebla	Campo San Martín, Chapingo, México	DMS
Porcentaje de Amarre	6.97 a	7.17 a	2.07
Peso Promedio de Fruto	88.91 a	32.66 b	3.65
Número de Semillas por Fruto	3.67 a	3.40 a	0.35
Índice de Polinización ^A	0.22 b	0.41 a	0.16

^A Índice de Polinización = Número de semillas / flores polinizadas.

Mismas letras en la misma hilera, son estadísticamente similares. Tukey, $\alpha \leq 0.05$.

Entre las dos localidades, se observó diferencia estadística ($r^2 = 0.6834$, $\alpha = 0.05$; CV= 36.01), en el peso promedio de los frutos. La media del peso de frutos observados en Tetela fue de más del doble de la media observada en el Campo San Martín (cuadro 5). Entre los factores del medio ambiente que influyen en el tamaño del fruto del manzano, la disponibilidad de agua sobresale del resto; si durante el desarrollo del fruto los árboles no sufren de sequías el rendimiento no se verá mermado (Faust, 1989). El clima de ambas localidades es similar, pero Tetela de Ocampo, presentó un periodo más húmedo a lo largo del año en comparación con Chapingo, proporcionando mayor posibilidad de desarrollo de los frutos.

El número de semillas por fruto no presentó diferencias estadísticas entre las dos localidades ($r^2 = 0.2435$, $\alpha = 0.05$; CV= 57.11). Sin embargo, en Tetela de Ocampo, la media de esta variable, fue ligeramente mayor a la media observada en el Campo San Martín (cuadro 5).

Entre las dos localidades, se observó la existencia de diferencias estadísticas en el índice de polinización ($r^2 = 0.4676$, $\alpha = 0.05$, $CV = 113.04$). En el Campo San Martín, se observó casi el doble del valor del índice de polinización en comparación del valor observado en Tetela de Ocampo. Pimienta (1990) mencionó que uno de los factores ambientales que influyen sobre el amarre de frutos es la presencia de vientos durante la floración, ya sea porque disminuye la actividad de los polinizantes (abejas) o porque acelera el desecamiento de los estigmas de las flores, disminuyendo la receptibilidad del estigma. Es probable que este factor haya influenciado sobre la presencia de las diferencias del índice entre estas localidades, ya que durante la realización del experimento en Tetela de Ocampo, por las tardes se presentó viento con velocidades de entre 5 y 10 m seg^{-1} (datos de la estación climática).

6. CORRELACIÓN ENTRE LAS SEMILLAS Y EL TAMAÑO DE FRUTO

La correlación entre el número de semillas y el peso de fruto en las dos comunidades fue similar, siendo menos marcada en la localidad de Tetela de Ocampo, que en el Campo San Martín (figura 11).

La relación entre el número de semillas y el diámetro del fruto mostró la misma tendencia que la observada entre el número de semillas y el peso del fruto (figura 12). La correlación entre el número de las semillas y el diámetro del fruto fue mayor entre los frutos obtenidos en el Campo San Martín en comparación de los de Tetela de Ocampo.

Debido a que los frutos pomáceos presentan poca cantidad de semillas, en comparación con los frutos tipo baya, su influencia sobre su peso final no es tan marcada como en estos últimos. El número de semillas suele influir más sobre la forma del fruto de manzana, tendiente a ser más alargada cuando tienen menos semillas, al reducirse el diámetro del fruto (Faust, 1989).

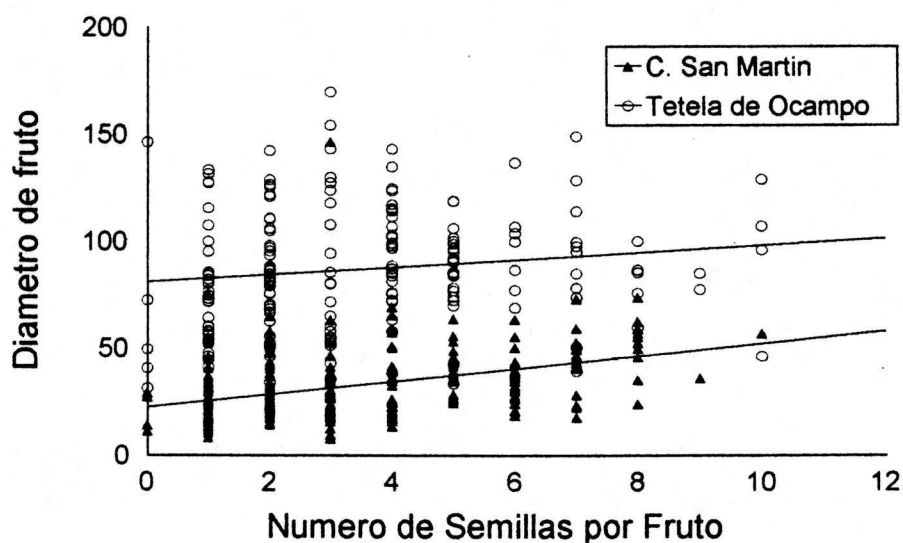


Figura 11. Correlación entre el número de semillas y el peso del fruto de manzano 'Agua Nueva II', de dos localidades. Tetela de Ocampo, Puebla ($r= 0.1436$, $\alpha= 0.0325$); Campo San Martín, Texcoco ($r= 4011$, $\alpha= 0.0001$).

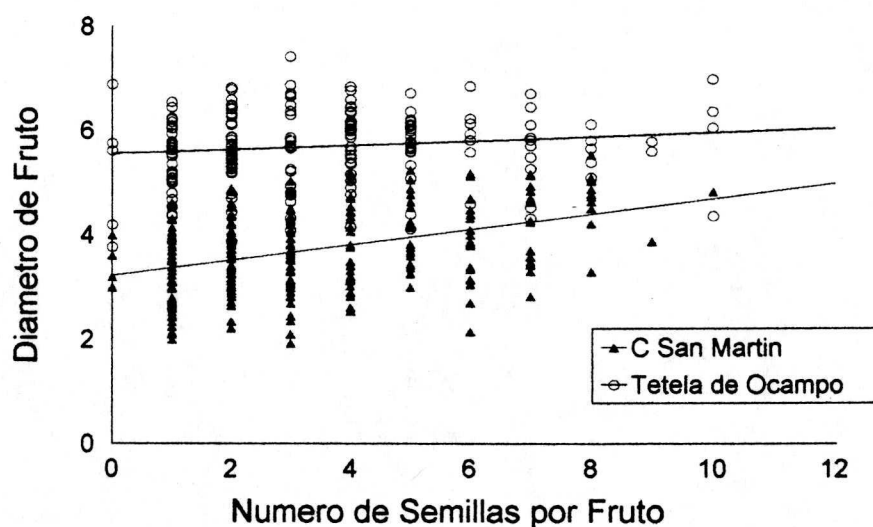


Figura 12. Correlación entre el número de semillas y el peso del fruto de manzano 'Agua Nueva II', de dos localidades. Tetela de Ocampo, Puebla ($r= 0.1328$, $\alpha= 0.0587$); Campo San Martín, Texcoco ($r= 4533$, $\alpha= 0.0001$).

V. CONCLUSIONES

1. En condiciones ambientales de Tetela de Ocampo, Puebla, el manzano cv. Maayan, se observó con mayor potencial como polinizador del cultivar Agua Nueva II al presentar un mayor traslape de floración.
2. En condiciones ambientales del Campo San Martín, Chapingo, Estado de México, los manzanos cvs. Elba y Maayan, se observaron con mayor potencial como polinizadores del cultivar Agua Nueva II al presentar un mayor traslape de floración.
3. Ramos en floración de los cultivares Anna y Elba colocados sobre árboles del cultivar Agua Nueva II, produjeron amarre de frutos en el mismo y sobre los árboles ubicados en ambos lados de éste, hasta 4 metros de distancia, aunque en estos últimos el amarre se redujo hasta en un 50 %.
4. El polen de los manzanos cvs. Anna, Elba y Maayan, aplicado en forma manual presentó una respuesta similar en el amarre de frutos sobre flores del cultivar Agua Nueva II.
5. El manzano cv. Agua Nueva II se puede considerar como auto-incompatible en las dos localidades.
6. En condiciones ambientales del Campo San Martín, Chapingo, Estado de México, el polen de los manzanos cvs. Anna, Elba y Maayan, presentaron un desarrollo de los tubos polínicos dentro de los estilos del cultivar Agua Nueva II hasta el ovario en 36 horas. En cambio los de éste último, casi en su totalidad, inhibieron su desarrollo entre la mitad y dos tercios del estilo.

VI. LITERATURA CITADA

- Armas R, R. 1985. Caracterización del manzano cv Anna durante su desarrollo sobre los portainjertos M7, M26 y MM111. Tesis de Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Chapingo México. 60 h.
- ASERCA, 1995a. La producción mundial de manzana. Claridades Agropecuarias No. 27, 17-23.
- ASERCA, 1995b. La manzana en México. Claridades Agropecuarias No. 27, 3-16.
- Benedek, P and J Nyeki. 1995. Role of bee pollination in the fruit set and yield of self-fertile and self-sterile apple, sour cherry and plum cultivar. Horticultural science. 27(3-4) 34-37.
- Bergamini, A; G Ponchia; M Sacco. 1986. Observations on the intercompatibility between Golden Delicious, Starking, Neipling Early Red Stayman and some apple scab-resistant cultivars and selections. (Abstract). Annali Dell'Instituto Spermentale per la Frutticoltura, 27, 251.
- Boyle, D M and B J R Philogene. 1985. Pollinator activity and abiotic factors in an apple orchard. The Canadian Entomologist. 117: 1509-1521.
- Brault, A M and D De Oliveira. 1995. Seed number and an asimmetry index of "McIntosh" apples. HortScience 30 (1): 44-46.
- Brewbaker, J L. 1967. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. Amer. Jour. Bot. 54: 1069-1083.
- Brooks, R M and H P Olmo. 1972. Register of new fruit and nut varieties. University of California Press. 708 p.
- Brown, A G. 1975. Apples. In: Advances in fruit breeding. J Janick y J N Moore (Editores). 3-37.
- Dayton, D F. 1974. Overcoming self-incompatibility in apple with killed compatible pollen. Journal Amer. Soc. Hort. Sci. 99: 190-192.

- Díaz M, D. H. 1989. Fisiología de la floración y comportamiento de los árboles de clima templado en los subtrópicos. En: Memorias del Simposium Producción Forzada en Frutales. Colegio de Postgraduados. P 13-16.
- Díaz M, D. H; A. Alvares; J. Sandoval. 1987. Cultural and chemical practices to induce uniform bud break of peach and apple under warm climates. *Acta Horticulturae* 199: 129-136.
- Dennis, F G Jr. 1979. Factors affecting yield in apple with emphasis on "Delicious". *Hort. Rev.* 1: 395-422.
- Dutova, L I; N V Mozhar; I G Malysenko. 1984. Using the method of fluorescence microscopy in breeding fruit crops. (Abstract). *Selektsiya plodovykh kul'tur.* 1984, 29-33.
- Franklin-Tong, V E; M J Lawrence; F C H Franklin. 1994. The molecular and cellular biology of gametophytic self-incompatibility in *Papaver rhoeas*. In: Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants. Edited by Williams, E G; A E Clarke; R B Knox. Kluwer Academic Publishers. Dordrech, Netherlands. P 42-64.
- Font Quer, P. 1979. Diccionario de botánica. 7ª reimpreseión. Editorial Labor, S A. España. 1244 p.
- Faust, M. 1989. Physiology of temperate zone fruit trees. John Wiley & Sons Inc. USA. 337 p.
- Galleta, G J. 1988. Manejo de polen y semillas. En: Métodos genotécnicos en frutales. J N Moore y J Janick (Editores). México, D F. P 27-62.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen. UNAM. México. 218 p.
- Griggs, W H. 1970. The status of deciduous fruit pollination, the indispensable pollinators. A Reporth of the 9th Pollination Conference, Hort. Spring, Arkansas. P 185-210.
- Grijalva C, R L. 1988. Influencia de Ethrel y Alar sobre la cantidad de los frutos de manzana en los cvs Maayan y Tropical Beauty. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Chapingo México. 125 h.

- Heslop-Harrison, Y and K R Shivana. 1977. The receptive surface of the angiosperm stigma. *Annals of Botany*. 41: 1233-1258.
- Hopping, E M and E M Jerram. 1980. Supplementary pollination of tree fruits. II field trials on kiwifruit and japanese plums. *Journal of Agricultural Research*. 23: 517-521.
- INEGI, 1993a. Anuario estadístico del comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Importación. Tomo I. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. P 34.
- INEGI, 1993b. Anuario estadístico del comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Exportación. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. P 24.
- INEGI, 1994a. Anuario estadístico del comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Importación. Tomo I. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. P 34.
- INEGI, 1994b. Anuario estadístico del comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Exportación. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. P 21.
- INEGI, 1995a. Anuario estadístico del comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Importación. Tomo I. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. P 29.
- INEGI, 1995b. Anuario estadístico del comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Exportación. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. P 26.
- INEGI, 1996a. Anuario estadístico del comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Importación. Tomo I. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. P 30.
- INEGI, 1996b. Anuario estadístico del comercio exterior de los Estados Unidos Mexicanos. Exportación. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. México. P 28.
- Ishiyama, M; H Kitayama; T Sato; K Ishizawa; Y Nakamura; C Suzuki; M Yamada. 1995. Field pollination tests in apple. (Abstract). *Bulletin of the Aomori Apple Experiment Station*. 28, 1-21.

- Jefferies, C J and A R Belcher. 1974. A fluorescent brightener used for pollen tube identification in vivo. *Stain Technology*. 49(4): 199-202.
- Jiménez G, E H y A A Luis. 1978. Estudio fenológico de los principales cultivares de manzano en Canatlán, Durango. Informe CIANOC-Canatlán, Dgo. INIA.
- Kearns, C. A. and D. W. Inouye. 1993. *Techniques for Pollination Biologist*. University Press of Colorado. U. S. A. 583 p.
- Layne, R E C. 1988. Hibridación. En: *Métodos genotécnicos en frutales*. J N Moore y J Janick (editores). México, D F. P 63-86.
- Linskens, F H. 1982. Pollination process: Understanding fertilization and limits to hybridation. In: *Strategies on plant reproduction*. Symposium six, Granada. Pp 35-49.
- Maggs, D H. 1975. Influence of a prolonged flowering period on the uniformity of an apple crop. *Jour. Exp. Agric. and An. Husb.* 15: 709-714.
- Maggs, D H; G J Martin; R A Needs. 1971. The spread os cross-pollination in a solid block of Granny Smith apples. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 11: 113-117.
- Mata B, I; G López M; A Rumayor. 1985. Evaluación fenológica de mutantes naturales de manzano cv 'Golden Delicious'. *Memorias del. X Congreso de Recursos Genéticos*. SOMEFI. México. 3-34.
- Miranda B, J L. 1994. Estimulación de la brotación en el manzano 'Agua Nueva II'. Tesis de Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Montecillos, México. 95 h.
- Modlibowska, I. 1945. Pollen tube growth and embryo sac development in apples and pears. *Journal of Pomology*. 21, 57-89.
- Monselise, S P and E E Goldschmidt. 1982. Alternate bearing in fruit trees. *Hort. Rev.* 4: 128-172.
- Montalti, P and N filiti. 1984. Mentor pollen effect on the in-vivo germination of self-incompatibility apple pollen. *Scientia Horticulturae*. 23 (4) 337-343.
- Muratalla L, A. 1986. Comportamiento de 19 especies de manzano (*Malus* sp) injertados con el cultivar Elba, en montecillos, México. Tesis de Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Chapingo México. 69 h.

- Newbigin, E D; M A Anderson; A E Clarke. 1994. Gametophytic self-incompatibility in *Nicotiana glauca*. In: Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants. Edited by Williams, E G; A E Clarke; R B Knox. Kluwer Academic Publishers. Dordrech, Netherlands. P 5-18.
- Niu, J Z; P H Cong; S D Man; Z C Yan. 1994. Observations on self fertilization in some apple varieties. (Abstract). China Fruits. 1, 27-28.
- Pimienta B., E. 1987. Polinización y fecundación en frutales perenes. SARH. INIFyA. México, D. F. 28 p.
- Pimienta B, E. 1990. Fase progámica en angiospermas. Ciencia. 41. 319-332.
- Powell, L. E. 1986. The chilling requeriment in apple and its role in regulating time of flowering in spring in cold-winter climates. Acta Horticulturae 179: 129-136.
- Ramírez, H. y M Cepeda S. 1993. El manzano. Editorial Trillas. México, D F. 207 p.
- Ramírez, H and I Mata B. 1987. Flowering capacity of a Golden Delicious mutant in northeast México. Acta Horticulturae. 179: 373-374.
- Ramírez, H and L L Saavedra. 1990. A low chilling requirement Golden Delicious apple mutant from northeast México. Acta Horticulturae. 279: 67-75.
- Ramming, D W and H A Hinrichs. 1973. Sequential staining of callose by aniline blue and lacmoid for fluorescence and regular microscopy on a durable preparation of the same specimen. Stain Technology. 48(3): 133-134.
- Raya S, A. 1986. Caracterización del cv de manzano Maayan desarrollado sobre los portainjertos M7, M26 y M111. Tesis de Maestría en Ciencias, Colegio de Postgraduados, Chapingo México. 94 h.
- Rejman, A. 1983. The influence of pollinators on fruit set and some characters of "close" apples. Acta Horticulturae. 139, 29-31.
- Richards, A. J. 1986. Plant Breeding systems. George Allen and Unwin. London, U. K.
- SAGAR, 1998. Anuario estadístico de la producción agrícola. México.
- Schupp, J R and S I Koller. 1997. Testing a power duster for pollination of "McIntosh" apples. HortScience. 32(4): 742.

- Smycov, V K and M A Popov. 1984. Autogamy and self-sterility in apple trees. (Abstract). Byulleten' Gosudarstvennogo Nikitsogo Botanicheskogo Sada. 55, 32-34.
- Spiegel-Roy, P and F H-Alston. 1982. Pollination requeriments of new apple cultivars. Jour. Hort. Scie. 57 (2) 145-150.
- Stanley, R G and H F Linskens. 1974. Pollen: Biology, biochemistry, and management. Springer Verlag, New York, USA.
- Stösser R. and S F Anvari. 1982. Pollen tube growth and fruit set as influenced by senescence of stigma, style and ovules. Acta Horticulturae 139, 13-22.
- Sullivan, D T. 1965. The effect of time of bloom of individual flowers on size, shape and maturity of apple fruits. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 87: 41-46.
- Sutherland, S. 1986. Patterns of fruit set: What controls fruit-flower ratios in plants. Evolution 40: 117-128.
- Tromp, J and O Borsboom. 1994. The effect of autumn and spring temperature on fruit set and on the effective pollination period in apple and pear. Scientia Horticulturae. 60: 23-30.
- Visser, T. 1981. pollen and pollination experiments. IV. "mentor pollen" and "pioneer pollen" techniques reagarding incompatibility and incongruity in apple and pear. Euphytica 30:363-369.
- Visser, T. 1983. The role of pioneer pollen in compatible and incompatible pollinations of apple and pear. Acta Horticulturae. 139, 51-57.
- Villegas M, A. 1982. Propagación de cultivares de manzana (*Malus pumila* Mill) in vitro. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. 88 h.
- Way, R D. 1978. Pollination and fruit set of fruit crops. New York Agr. Expt. Sta. Bul. 76.
- Way, R D; J C Sanford; A N Lakso. 1988. Fructificación y Productividad. En: Métodos genotécnicos en frutales. J N Moore y J Janick (Editores). México D F. p 477-495.
- Westwood, M N. 1982. Fruticultura de zonas templadas. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 415 p.

- Williams, R R. 1965. The effect of summer nitrogen applications on the quality of apple blossom. *Journal Horticultural Science*. 40: 31-41.
- Williams, R R. 1970. Factors affecting pollination in fruit trees. In: *Physiology of tree crops*. Editors: Luckwill, L C and C V Cutting. Academic Press, Inc LD. Pp 193-208.
- Williams R R and R M Church. 1978. Effect of killed compatible pollen on self-incompatibility in apple. *Jour Hort Science*. 457- 4.61
- Williams, R R and M Maier. 1977. Pseudoincompatibility after self-pollination of the apple "Cox's Organ Pippin". *Journal of Horticultural Science*. 52, 475-83.
- Williams, R R and D Wilson. 1970. *Towards regulated cropping*. Grower Books. London, England.
- Williams, W. T. and T. B. A. Tax. 1990. Preliminary observations on the effects of hydrogen cyanamide on breaking dormancy and harvest of apples in Guatemala. *Acta Horticulturae* 279: 399-407.