



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

**POLINIZACIÓN Y AMARRE DE FRUTO
EN TRES CULTIVARES DE AGUACATEIRO
(*Persea americana* Mill.)**

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

**PRESENTA:
MELVA LUCY QUIÑONES ROLDÁN**

Chapingo, Estado de México, julio del 2000

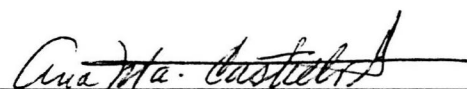


Bib 93318

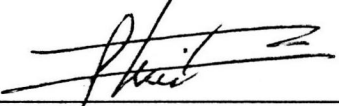
**POLINIZACIÓN Y AMARRE DE FRUTO EN TRES CULTIVARES DE
AGUACATERO (*Persea americana* Mill.)**

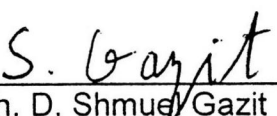
Tesis realizada por **Melva Lucy Quiñones Roldán** bajo la dirección del Comité
Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para
obtener el grado de:

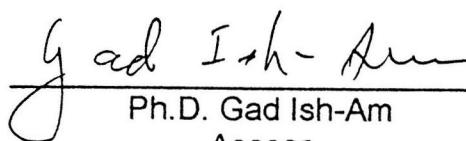
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA


Dra. Ana María Castillo González
Director


Dr. Alejandro F. Barrientos Priego
Asesor


Dr. Edilberto Avitia García
Asesor


Ph. D. Shmuel Gazit
Asesor


Ph.D. Gad Ish-Am
Asesor

**POLINIZACIÓN Y AMARRE DE FRUTO EN TRES CULTIVARES DE
AGUACATERO (*Persea americana* Mill.)**

El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de **Melva Lucy Quiñones Roldán** autor de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura estuvo constituido por:



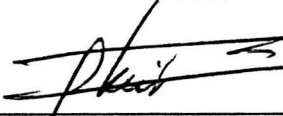
Dra. Ana María Castillo González

Presidente



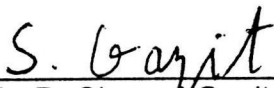
Dr. Alejandro F. Barrientos Priego

Asesor



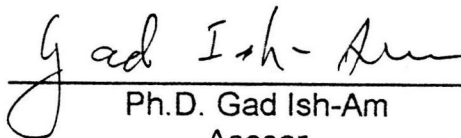
Dr. Edilberto Avitia García

Asesor



Ph. D. Shmuel Gazit

Asesor



Ph.D. Gad Ish-Am

Asesor

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Departamento de Fitotecnia, por brindarme la oportunidad de estudiar una Maestría y seguir escalando niveles en el conocimiento.

A la Secretaría de Relaciones Exteriores de México mediante el PROGRAMA "CUAUHTEMOC II" SRE / CONACYT / OEA, por haberme otorgado la beca para realizar mis estudios de Maestría, sin la cual esto no hubiera sido posible.

Al Instituto Nacional de Becas (INABEC) del Gobierno Peruano por haberme seleccionado como beneficiaria de una beca para la realización de mis estudios de Postgrado en México.

A la Asociación Amigos de la Universidad Hebrea de Jerusalén en México, por haber otorgado el financiamiento económico para la realización de la presente investigación.

A la Fundación Salvador Sánchez Colín, S.C., por las facilidades brindadas para el establecimiento del experimento en campo.

Al Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) a través de la Ph. D. Lucy Gilchrist y la Ing. Rosa María López por haberme brindado todas las facilidades para el uso del microscopio de fluorescencia.

A la Dra. Ana María Castillo González, por la dirección, sugerencias y revisión cuidadosa de la presente tesis.

Al Dr. Alejandro F. Barrientos Priego, por haberme dado la oportunidad de participar en este proyecto de investigación, por la asesoría, por todo el apoyo recibido y la confianza depositada en mí.

Al Dr. Edilberto Avitía García, por la asesoría, sus acertadas sugerencias durante la fase de laboratorio y la revisión del escrito.

A los Ph. D. Shmuel Gazit y Gad Ish-Am, por permitirme participar en el proyecto de investigación referente a la Biología Reproductiva del Aguacatero en México, por sus acertadas sugerencias y disponibilidad en la revisión de la presente tesis.

A la Sra. Ángela Barrera Cortés, por su amistad y apoyo brindado en la fase de laboratorio.

Al M.C. Rodolfo Muñoz por su gentileza y apoyo durante la fase de campo.

A la M. Sc. Daniela Horna, por su intervención ante el CIMMYT para que se me brindaran las facilidades para el uso del microscopio de fluorescencia, por su valiosa amistad, compañía y todo el apoyo recibido.

Al M. C. Isaac Meneses Márquez, por todo el apoyo incondicional brindado durante el primer año de experimentación, por su sincera y valiosa amistad y por haber compartido muchas horas de trabajo y estudio.

Al M. C. Lauro Martínez Martínez, por el valioso apoyo brindado durante el segundo año de experimentación, por su gran amistad y comprensión.

A Elizabeth y a todos los compañeros de la Maestría que me brindaron su amistad durante mi estancia en México.

A todos mis Profesores de la Maestría en Ciencias en Horticultura por compartir sus conocimientos.

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida y acompañarme en los momentos difíciles.

A mi Madre y Abuelita con amor, por ser quienes guiaron mis pasos, por su amor incondicional, esfuerzo y sacrificio durante mi formación y por ser padre y madre a la vez.

A mis tías y tíos: Tere, Andre, Cris, Carmencita, Alfredo y Diógenes con mucho cariño, por ser como los padres y hermanos que nunca tuve, por haberme dado su amor, cariño, comprensión y apoyo incondicional para la obtención de cada una de mis metas y por haber compartido juntos momentos de tristeza y alegría.

A mi Abuelito Aníbal Roldán Saavedra (q.e.p.d.) y a mi tía Luisa Vigo Robles (q.e.p.d.), seres maravillosos que siempre estarán en mi corazón.

A mi querida tía Teresita de Jesús, persona maravillosa, quien con su gran sensibilidad humana nos enseñó el amor a Dios.

A mis tías Rosy y María y a mis primos: Estephanie, Verónica, Fiorella, Johana, Laurita, Gladys, Alfredo, Brunito, Gerardito, Christopher, Pier Luigui, Fausto, Daniel, Raúl, Pablo y Jorge por brindarme su cariño y entusiasmo.

DATOS BIOGRÁFICOS

La autora de la presente tesis **Melva Lucy Quiñones Roldán** de nacionalidad Peruana, realizó sus estudios de Licenciatura en la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú, durante el período de agosto de 1987 a julio de 1992. Obteniendo el título de Ingeniero Agrónomo con la tesis intitulada: “Efecto de la densidad de siembra en tres cultivares de pepinillo para encurtido (*Cucumis sativus* L.)”.

Durante el período de 1993 a 1994 trabajó en la evaluación y formulación de Proyectos de Desarrollo Regional en la zona de selva del Departamento de San Martín, Perú en el Programa Nacional de Asistencia Alimentaria (PRONAA) del Gobierno Peruano. Posteriormente (1994 a 1995) se desempeñó como supervisora y coordinadora de proyectos de Desarrollo Agrícola en Costa, Sierra y Selva en la Oficina de Proyectos Nacionales, Coordinación General de Proyectos del PRONAA del Ministerio de la Presidencia, Lima, Perú.

A partir de 1995 a 1997 laboró en la empresa AGUSA teniendo a su cargo la administración, manejo y producción de un huerto de 140 ha de manzano, durazno y plátano bajo riego por goteo, en Mala, Perú. Paralelamente brindó asesoría a productores y colaboró en el Programa de Investigación en Horticultura de la Universidad Agraria La Molina.

Realizó estudios de Maestría en Ciencias en Horticultura con orientación en Fruticultura en el Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo de agosto de 1997 a julio de 1999.

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xv
RESUMEN.....	xvii
SUMMARY.....	xix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Origen y taxonomía.....	4
2.2. Características de los cultivares.....	5
2.2.1. Cultivar Hass.....	5
2.2.2. Cultivar Fuerte.....	5
2.2.3. Cultivar Colín V-33.....	6
2.3. Estructura floral.....	7
2.4. Número de granos de polen por antera.....	8
2.5. Tipos de inflorescencia.....	10
2.6. Polinización y fecundación.....	11
2.6.1. Autopolinización.....	14
2.6.2. Polinización cruzada.....	16
2.6.3. Agentes polinizantes.....	19
2.6.4. Polinizadores.....	24
2.7. Fase progámica.....	26
2.7.1. Deposición e hidratación de los granos de polen.....	26
2.7.2. Germinación de los granos de polen.....	27
2.7.3. Desarrollo de los tubos polínicos en el estilo.....	28
2.7.4. Penetración de los tubos polínicos en el óvulo y el saco embrionario.....	31

2.8. Germinación de polen <i>in vitro</i>	32
2.9. Viabilidad del polen.....	33
2.10. Mecanismos que conducen a la polinización cruzada.....	36
2.10.1. Dicogamia.....	36
2.10.2. Incompatibilidad sexual.....	37
2.11. Doble fecundación.....	40
2.12. Factores que influyen sobre la polinización y fecundación.....	40
2.12.1. Condiciones ambientales.....	41
2.12.1.1. Temperatura.....	41
2.12.1.2. Viento.....	44
2.12.1.3. Humedad.....	45
2.12.2. Comportamiento floral.....	46
2.12.3. Condición de la planta.....	47
2.13. Amarre y desarrollo de frutos.....	48
2.14. Factores que influyen sobre el amarre y desarrollo de fruto.....	48
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	53
3.1. Localización del experimento.....	53
3.2. Material vegetal.....	53
3.3. Diseño experimental.....	54
3.4. Variables evaluadas.....	55
3.4.1. Clima.....	55
3.4.2. Aplicación de insecticidas.....	55
3.4.3. Receptividad del pistilo.....	56
3.4.4. Efecto del tipo de polinización sobre el desarrollo del tubo polínico y amarre inicial de fruto.....	57
3.4.5. Polinización abiótica espontánea.....	58
3.4.6. Estudio anatómico de frutos.....	59
3.4.6.1. Deshidratación, transparentación e inclusión en parafina..	59
3.4.6.2. Corte y montaje.....	59
3.4.6.3. Tinción con safranina y verde fijo.....	60
3.4.7. Preparación de pistilos para su observación al microscopio.....	61

3.4.7.1. Ablandamiento de pistilos con NaOH.....	61
3.4.7.2. Enjuague.....	61
3.4.7.3. Tinción.....	61
3.4.8. Viabilidad del polen.....	63
3.4.9. Granos de polen por antera.....	64
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	65
4.1. Receptividad del pistilo en 'Hass' durante el período de floración de invierno de 1998.....	65
4.2. Receptividad del pistilo en diferentes estados de apertura floral de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante el período de floración de invierno de 1999.....	68
4.3. Amarre inicial de fruto proveniente de flores autopolinizadas en dos estados de apertura floral de 'Hass' durante el período de floración de invierno de 1998.....	81
4.4. Amarre de fruto en diferentes estados de apertura floral de 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante el período de floración de invierno de 1999.....	81
4.5. Efecto del tipo de polinización sobre el desarrollo del tubo polínico y amarre inicial de fruto	86
4.5.1. Desarrollo del tubo polínico en flores en estado femenino de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada durante el período de floración de invierno de 1999.....	86
4.5.2. Amarre inicial de frutos a partir de flores en estado femenino bajo condiciones de autopolinización, polinización cruzada y polinización libre en tres cultivares de aguacatero durante el período de floración de invierno de 1999.....	94

4.5.3. Amarre inicial de fruto proveniente de autopolinización y polinización cruzada en los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante dos años consecutivos de floración.....	98
4.6. Polinización abiótica.....	103
4.7. amarre inicial de fruto en inflorescencias embolsadas.....	108
4.8. Viabilidad del polen.....	116
4.9. Granos de polen por antera.....	121
5. CONCLUSIONES.....	125
6. LITERATURA CITADA.....	130
7. ANEXOS.....	140

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Desarrollo del tubo polínico en dos estados de apertura floral del aguacatero 'Hass' (1998).....	67
2	Porcentaje de flores del aguacatero 'Hass' con desarrollo del tubo polínico en dos estados de apertura floral (1998).....	67
3	Desarrollo del tubo polínico en diferentes estados de apertura floral de tres cultivares de aguacatero (1999).....	71
4	Porcentaje de flores con desarrollo de tubo polínico en diferentes estados de apertura floral de tres cultivares de aguacatero (1999).....	74
5	Desarrollo del tubo polínico en pistilos de flores en estado femenino de tres cultivares de aguacatero bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada durante el período de floración de invierno de 1999.....	87
6	Porcentaje de flores polinizadas en estado femenino con desarrollo de tubo polínico en tres cultivares de aguacatero (1999).....	93
7	Amarre inicial total de fruto (AIF) por cultivar de aguacatero durante el período de floración de invierno de 1999.....	95
8	Amarre inicial de fruto (AIF) en los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' proveniente de diferentes tipos de polinización durante el período de floración de invierno de 1999.....	96

9	Amarre inicial de fruto (AIF) por año de evaluación (considerando tanto la autopolinización como la polinización cruzada) de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'.....	99
10	Amarre inicial de fruto (AIF) por cultivar (considerando tanto la autopolinización como la polinización cruzada) de aguacatero durante dos años consecutivos de floración.....	100
11	Amarre inicial de fruto (AIF) en los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' por tipo de polinización durante dos años consecutivos de floración.....	101
12	Desarrollo del tubo polínico en flores embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante dos años de evaluación.....	104
13	Desarrollo del tubo polínico en flores embolsadas de aguacatero.....	105
14	Desarrollo del tubo polínico en flores embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante dos estados de apertura floral.....	106
15	Desarrollo del tubo polínico en flores embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' por zona del árbol.....	107
16	Amarre inicial de fruto en inflorescencias embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' en dos años consecutivos de floración.....	108
17	Amarre inicial de fruto en inflorescencias embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' por zona del árbol.....	109
18	Amarre inicial de fruto en inflorescencias embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante dos años consecutivos de floración.....	110

19	Estudio anatómico de frutos de aguacatero 'Hass' provenientes de inflorescencias de polinización libre y embolsadas (1998).....	113
20	Diámetro de frutos de aguacatero 'Hass' provenientes de polinización libre y embolsadas.....	113
21	Viabilidad del polen de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33', determinado por tinción con tetrazolium.....	119
22	Viabilidad del polen de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante tres fechas de evaluación.....	119
23	Viabilidad del polen de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'.....	120
24	Granos de polen por antera en tres cultivares de aguacatero; diez anteras evaluadas por cultivar.....	122
25	Coeficiente de correlación (r) para la variable granos de polen por antera en tres cultivares de aguacatero.....	124

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Acumulaciones de calosa en el tubo polínico a nivel del estilo de una flor en estado masculino de aguacatero. A. Parte superior del estilo, B. Parte basal del estilo.....	76
2	Amarre inicial de fruto en dos estados de apertura floral del aguacatero 'Hass'. La barra indica el porcentaje de 160 flores polinizadas $\pm$ error estándar.....	82
3	Amarre de fruto en tres estados de apertura floral de tres cultivares de aguacatero. La barra indica el porcentaje de 160 flores polinizadas (cruza) $\pm$ error estándar.....	84
4	Granos de polen germinados en el estigma de una flor en estado femenino de aguacatero. A. Observado con lacmoide; B. Observado mediante fluorescencia.....	89
5	Penetración del tubo polínico en el ovario de una flor en estado femenino de aguacatero.....	90
6	Penetración del tubo polínico en el óvulo de una flor en estado femenino de aguacatero.....	90
7	Amarre inicial de fruto en tres cultivares de aguacatero con diferentes tipos de polinización (1999). La barra indica el porcentaje de 160 flores polinizadas en estado femenino $\pm$ desviación estándar.....	97
8	Amarre inicial de frutos provenientes de polinización manual en tres cultivares de aguacatero. La barra indica el porcentaje de 160 flores polinizadas en estado femenino $\pm$ desviación estándar.....	102

9	Amarre de fruto en inflorescencias embolsadas de tres cultivares de aguacatero. Cada punto indica el promedio de frutos de 180 inflorescencias $\pm$ desviación estándar. Evaluación a partir de un mes después de antesis	111
10	Embrión en estado globular de aguacatero 'Hass'. Em = Embrión; Nu = Nucela y En = Endospermo.....	114
11	Granos de polen de aguacatero 'Fuerte'. A. Grano viable (V) y granos no viables (NV), B. Grano no viable, C. Grano con ruptura de pared celular y vaciado del citoplasma.....	117

RESUMEN

Polinización y amarre de fruto en tres cultivares de aguacatero (*Persea americana* Mill.)

Melva Lucy Quiñones Roldán¹ y Ana María Castillo González²

Bajo condiciones naturales de Coatepec Harinas, México, se evaluó el período de receptividad del pistilo y amarre inicial de fruto en diversos estados de apertura floral de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' así como el efecto del tipo de polinización sobre el desarrollo del tubo polínico y amarre inicial de fruto, la ocurrencia de polinización abiótica y el desarrollo inicial de fruto en ausencia de fecundación durante dos períodos consecutivos de floración (1998 y 1999). Además, se determinó el porcentaje de viabilidad y la cantidad de polen producido en las anteras de cada cultivar. Para evaluar la receptividad del pistilo, en el primer año se autopolinizaron flores en estado femenino y en estado masculino antes y después de liberado el polen. En el segundo año se realizó polinización cruzada. Para evaluar el efecto de la autopolinización, polinización cruzada y polinización libre sobre el desarrollo del tubo polínico y amarre inicial de fruto se polinizaron manualmente flores en estado femenino. Para evaluar la polinización abiótica se cubrió una rama por cada zona del árbol. En todos los casos las ramas se cubrieron un mes antes de la floración con una malla que evitó la entrada de insectos. Las flores se recolectaron 48 horas después de la polinización y se determinó la ubicación del tubo polínico en el microscopio óptico y en el de fluorescencia usando la tinción de lacmoide y azul de anilina, respectivamente. El amarre inicial de fruto se determinó cinco semanas después de la polinización y cada mes se registró el número de frutos de polinización libre y frutos embolsados, realizándose cortes anatómicos de éstos para determinar la presencia del embrión. Para la determinación del porcentaje de viabilidad del polen se usó la prueba de tinción de tetrazolium y para determinar el número de granos de polen por antera se colectaron diez anteras antes de la liberación del polen y se tiñeron con safranina (0.005 %). Los estigmas de las flores de 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' fueron receptivos en estado femenino y en estado masculino antes y después de liberado el polen. En los tres estados los granos de polen germinaron bien. Los pistilos de 'Hass' y 'Fuerte' fueron más receptivos en estado femenino y masculino antes de liberado el polen, puesto que se encontró mayor porcentaje de flores con tubo polínico en el ovario. En el estado masculino después de

¹ Resumen de la tesis que presenta el autor como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Horticultura.

² Director de tesis: Profesor-Investigador de tiempo completo del Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo (UACH). Chapingo, Méx. 56230

liberado el polen los tubos polínicos no desarrollaron más allá de la parte superior del estilo. En 'Colín V-33' el 5 % de las flores polinizadas en estado femenino presentó tubo polínico en el ovario y en el estado masculino antes y después de liberado el polen, éstos no desarrollaron más allá de la parte basal del estilo. La reducción del desarrollo del tubo polínico en las flores en el estado masculino estuvo asociada a la presencia de deposiciones de calosa y engrosamiento de los ápices de los tubos polínicos. El período de receptividad del pistilo en el cultivar Hass (Tipo A) fue mayor que en 'Fuerte' y en 'Colín V-33' (Tipo B). La diferencia en el período de receptividad del pistilo estuvo determinada por las condiciones ambientales y el comportamiento floral de los cultivares. En 'Hass' y 'Colín V-33' fue factible obtener amarre inicial de frutos en el estado femenino y masculino antes de liberado el polen. Sin embargo, sólo sobrevivieron los frutos provenientes de flores polinizadas en estado femenino. En 'Fuerte' únicamente se logró amarre inicial de frutos en estado femenino; demostrando que la polinización en estado masculino bajo las condiciones de Coatepec Harinas, México no es efectiva. La autopolinización y polinización cruzada tuvieron un efecto similar en el desarrollo del tubo polínico a través del estilo y el ovario. Sólo un tubo polínico logró penetrar al ovario y en todos los casos la polinización cruzada permitió obtener mayor porcentaje de flores con penetración de óvulo. El amarre inicial de frutos que se obtuvo con autopolinización (37.08 %) y polinización cruzada (49.58 %) fue superior al obtenido bajo condiciones de polinización libre (5.21 %) en los tres cultivares evaluados ($P \leq 0.05$). La polinización cruzada permitió obtener mayor porcentaje de amarre inicial de frutos que la autopolinización. Sin embargo, este varió entre cultivares y entre años. En 'Colín V-33' la polinización cruzada duplicó el amarre inicial obtenido con autopolinización. Los cultivares Hass y Colín V-33 presentaron mayor cantidad de granos de polen por antera (1008 y 1137, respectivamente) y mayor porcentaje de viabilidad de polen (92.8 y 95.3 %, respectivamente) que 'Fuerte' (894 granos y 86.2 % de viabilidad). La cantidad de polen y la viabilidad del mismo aparentemente no son limitantes para el amarre de fruto en 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'. La polinización abiótica en el aguacatero es insignificante en el amarre de fruto, por lo cual es necesaria la presencia de los insectos polinizantes. La falta de embrión en todos los frutos de inflorescencias embolsadas, demostró que el desarrollo inicial de fruto en 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' se puede producir en ausencia de fecundación. No obstante, estos frutos no pueden completar su desarrollo.

Palabras clave: *Pesea americana* Mill., autopolinización, polinización cruzada, polinización abiótica, polinización libre, tubo polínico.

ABSTRACT

Melva Lucy Quiñones Roldán

Pollination and fruit set in three cultivars of avocado (*Persea americana* Mill.)

July 2000

Under the direction of A.M. Castillo González.

Pistil receptivity period and initial fruit set at different stages of floral opening of avocados 'Hass', 'Fuerte' and 'Colín V-33' as well as the effect of the pollination type on the pollen tube growth and initial fruit set, the occurrence of abiotic pollination and the initial development of fruit in absence of fertilization were studied under the Coatepec Harinas, México conditions during two consecutive blooming seasons (1998 and 1999). In addition, the viability percentage and quantity of pollen grains per anther of each cultivar was determined. In order to evaluate the pistil receptivity, in the first year the flowers at the female stage and male stage before and after pollen shed were self-pollinated. In the second year cross-pollination was made. For the evaluation of self-pollination, cross-pollination and open pollination effect on the pollen tube growth and initial fruit set it carried out hand pollination of covered female flowers. For the evaluation of the abiotic pollination, branches on the four cardinal sides of the tree were covered with bags that prevented the entrance of pollinating insects. Flowers were collected 48 hours after pollination and pollen tubes were located inside the style under optical light and fluorescence microscope, using lacmoid and anilline blue staining, respectively. The initial fruit set was determined five weeks after the pollination and every month the number of open pollination and bagged fruits was registered. Anatomical studies of the fruits was made to determine the presence of the embryo. The determination of pollen viability percentage was made by means of tetrazolium staining test. For determine the number of pollen grains per anther, just before the pollen shed ten anthers were randomly sampled and stained with 0.005 % safranina solution. The 'Hass', 'Fuerte' and 'Colín V-33' flower stigmas were receptive at female and male stage before and after pollen shed. In the three stages the pollen grains germinated well. The 'Hass' and 'Fuerte' pistils were more receptive at female and male stage before pollen shed, since was greater percentage of flowers with pollen tube in the ovary. At the male stage after pollen shed, the pollen-tube did not growth further more that the top of the style. In 'Colín V-33' 5 % of the pollinated flowers at female stage presented pollen tube growth only at the base of style. The pollen tube growth reduction at the male stage flowers was associated to the presence

of calosa depositions and pollen tubes apexes thickening. The 'Hass' pistil receptivity period (A Type) was greater than 'Fuerte' and 'Colín V-33' (B Type). The difference in the pistil receptivity period was determined by environmental conditions and floral behavior of the cultivars. In 'Hass' and 'Colín V-33' was feasible to obtain initial fruit set at the female and male stage before pollen shed. Nevertheless, only survived fruits originated of pollinated flowers at female stage. In 'Fuerte', initial fruit set was obtained only at female stage; demonstrating that pollination at male stage under Coatepec Harinas, Mexico conditions is not effective. The self-pollination and cross-pollination had a similar effect on the pollen tube growth through the style and the ovary. Only one pollen tube reached the ovary. In all the cases cross-pollination allowed to obtain greater percentage of flowers with ovule penetration. The initial fruit set that was obtained with self-pollination (37.08 %) and cross-pollination (49.58 %) was superior to the obtained under of open pollination conditions (5.21 %) in the three evaluated cultivars ($P \leq 0.05$). The cross-pollination allowed to obtain greater initial fruit set percentage than the self-pollination. However, it varied between cultivars and years. In 'Colín V-33' the cross-pollination duplicated the initial fruit set obtained with self-pollination. Cultivars Hass and Colín V-33 presented greater quantity of pollen grains per anther (1008 and 1137, respectively) and greater percentage of viability (92.8 and 95.3 %, respectively) than 'Fuerte' (894 grains and 86.2 % of viability). Pollen quantity and its viability apparently do not seem to limit productivity of the evaluated cultivars. Abiotic pollination in the avocado was insignificant in the fruit set, thus is necessary the presence of pollinating insects. Lack of embryo in all covered inflorescences fruits, demonstrated that the initial development of fruit in 'Hass', 'Fuerte' and 'Colín V-33' could be produced in absence of fertilization; however, the produced fruits could not complete their development.

Key words: *Persea americana* Mill. Self-pollination, cross-pollination, open pollination, pollen tube.

1. INTRODUCCIÓN

México es reconocido como el principal país productor de aguacate en el mundo (Sánchez y Rubí, 1994); se tienen establecidas cerca de 124,823 ha de aguacatero y se tiene una cosecha estimada de 1'148,547 toneladas (Sánchez *et al.*, 1997). De acuerdo con la FAO, en 1998 la producción total de aguacate en el mundo fue de 2'249,310 toneladas; de las cuales el 40 % fue producido por México, 5.8 % por Estados Unidos y sólo un 2.9 % por Israel (Anónimo, 1998).

A pesar de la abundante floración del aguacatero (1 a 2 millones de flores por árbol), el pobre amarre de fruto (0.001 %) y la alternancia de producción son uno de los principales problemas en los países productores de aguacate en el mundo e incluso en la mayoría de los cultivares (Davie *et al.*, 1995).

La productividad en la mayoría de los huertos de aguacatero es baja, menos de $10 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$. Sin embargo, en algunas huertas sobresalientes el promedio en varios años es de 20 a $25 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{año}^{-1}$. Varios factores son responsables de la baja productividad. Durante los últimos 25 años en Israel se ha llevado a cabo un estudio para entender la baja productividad del aguacatero. Uno de los

principales factores responsables de la baja productividad es la inadecuada polinización (Gazit y Shoval, 1995).

En México, a pesar de que los huertos comerciales están establecidos con un solo cultivar, se tiene un mayor porcentaje de amarre de fruto que en otros lugares del mundo, lo cual podría indicar que la polinización cruzada no es un factor que limite el rendimiento (Osuna, 1982). Además, se ha visto que la dicogamia no es muy marcada debido a las condiciones climáticas predominantes y frecuentemente existe traslapo de estados florales en algunos cultivares, lo cual podría estar favoreciendo la autopolinización, la receptividad del pistilo en los diferentes estados de apertura floral y éstos a su vez estar influyendo en el amarre de frutos (Papademetriou, 1975; Osuna, 1982; Davenport *et al.*, 1994). También es posible que el alto porcentaje de amarre inicial que se logra en algunos huertos se deba principalmente a la actividad polinizante de los insectos y/o al posible efecto favorable de los factores abióticos que se presentan (Bekey, 1992; Free, 1993; Robbertze, 1998; Schroeder y Hofshi, 1998).

Los factores que afectan a la polinización y al amarre de fruto han sido estudiados bajo las condiciones de California, Florida e Israel. En contraste, aún no se conoce lo suficiente acerca de este tema para las condiciones climáticas de las regiones productoras de aguacate en México. Con base en la problemática anterior se planteó el presente trabajo cuyos objetivos son:

- Conocer el período de receptividad del pistilo en diversos estados del comportamiento floral.
- Conocer el efecto del tipo de polinización sobre el desarrollo del tubo polínico y amarre inicial de fruto.
- Conocer si en aguacatero ocurre polinización abiótica.
- Conocer si hay desarrollo inicial de fruto en ausencia de fecundación.
- Determinar el porcentaje de viabilidad del polen.
- Determinar la cantidad de polen producido en las anteras.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Origen y taxonomía

Las partes altas del Centro y Este Central de México así como a las partes altas de Guatemala se consideran como el centro de origen del aguacatero (*Persea americana* Mill.). El género *Persea* pertenece a las Magnoliophyta (Angiospermas); clase Magnoliopsida (Dicotiledóneas): orden Ranales o Magnoliales (con más de 50 géneros) y familia Lauraceae (Scora y Bergh, 1990; Zentmyer, 1991).

La familia contiene varios taxa de importancia económica, especialmente como alimento y especias (*Persea americana* Mill. y *Cinnamomun* spp.); ornamentales (*Laurus nobilis* L. y *Persea indica*) y maderables (*Ocotea* Aubl. y *Nectandra* Roland ex Rottb.). Estos últimos dos géneros; así como *Beilschmiedia* Ness están estrechamente relacionados con *Persea* (Scora y Bergh, 1990; 1992).

Bergh y Ellstrand (1986) apoyados por datos bioquímicos reconocen para *Persea americana* las variedades *americana* (Raza Antillana) y *drymifolia* (Raza Mexicana) de Kopp (1966) y renombran a la variedad *nubigena* como *Persea*

americana var. *guatemalensis* (Raza Guatemalteca); dejando a *P. nubigena* var. *nubigena* como una especie diferente. Esta última clasificación es ahora la más aceptada.

2.2. Características de los cultivares

2.2.1. Cultivar Hass

Este cultivar fue obtenido de semilla de la raza Guatemalteca en La Habra Heights, California por Rudolph G. Hass, seleccionado en 1934. El árbol tiene porte denso; se propaga fácilmente; el fruto es de tamaño mediano, con un peso promedio de 280 g, de forma ovoide o piriforme; la epidermis es de color verde que se oscurece al madurar, es coriácea y áspera; la pulpa es de excelente sabor, no fibrosa, con 23.7% de ácidos grasos; la semilla es pequeña. La fruta se considera de excelente calidad y buena conservación (Brooks y Olmo, 1972; Ibar, 1979). Su cultivo se ha preferido tanto por su amplia demanda como por la resistencia a plagas y enfermedades del fruto. Pertenece al grupo floral A, utilizándose como polinizador del cultivar Fuerte (Díaz, 1979).

2.2.2. Cultivar Fuerte

Es un híbrido de la cruce de la raza Guatemalteca por la raza Mexicana; originario de Atlixco Puebla, fue introducido a los Estados Unidos en 1911 (Ibar,

1979). Posee una marcada tendencia a la alternancia de producción. El árbol es poco desarrollado y sus ramas se extienden hacia los costados y hacia abajo. El cultivar Fuerte es sin duda el más difundido en todo el mundo por su excelente calidad del fruto (México, Canarias, Israel, Costa del Sol, etc.). En México es el segundo en importancia, después del 'Hass'. Su pulpa arroja un contenido oleoso de 22% (oscilando entre 15 y 26%). La baya tiene una forma típicamente piriforme, tamaño y peso promedio de 300 g (entre 200 y 350 g). La epidermis es flexible y elástica, de color verde sin brillo, su mesocarpio es vistoso y no posee fibras. Su semilla es mediana, de forma cónica y muy adherida a la pulpa. Su calidad y su resistencia al transporte lo ubican entre los aguacates más difundidos de América y Europa.

Este cultivar tiene tendencia a la formación de frutos sin semilla, que son más alargados y pequeños, y a los que se conoce como pepinillos o "cukes". Es muy exigente en la floración y en el período de cuajado de fruto, pues es sensible al frío y a las temperaturas elevadas, situaciones que afectan los órganos de la flor y la viabilidad del polen. Es común en la producción comercial intercalarlo con 'Topa Topa' y en México se le combina con 'Hass' como polinizador (Rodríguez, 1982).

2.2.3. Cultivar Colín V-33

Es un segregante del cultivar Fuerte, obtenido por el Dr. Salvador Sánchez Colín en la huerta "Las Animas", localizada en el municipio de Ixtapan de la Sal,

México. Presenta árboles compactos y de porte bajo, con marcado desarrollo lateral de sus ramas; tallo cilíndrico de color café grisáceo; hojas verde oscuro con margen ondulado; los brotes al inicio de su crecimiento son de color rojizo, tornándose verdes después; la inflorescencia (panícula) es de raquis grande, con abundantes flores y es de color amarillento; el fruto es grande, de forma piriforme, con un peso promedio de 400 g, con epidermis de color verde brillante, gruesa y áspera, considerado con adecuadas cualidades organolépticas, propio para la exportación. La semilla es pequeña, elíptica de color amarillento, con un peso promedio de 50 g (Sánchez, 1987).

2.3. Estructura floral

Las flores son hermafroditas (poseen los dos sexos), actinomorfas (simétricas) de color verde amarillento y con un diámetro aproximado de 1 cm. La inflorescencia es una panícula cimosa que puede ser axilar o terminal. Se estiman unas 200 flores por panícula. Consta de un perigonio con dos verticilos trímeros. El androceo está compuesto por 12 estambres insertos por debajo del ovario o alrededor del mismo. De estos estambres sólo 9 son funcionales. El gineceo posee un sólo pistilo, un ovario súpero, es unilocular y con un sólo óvulo anátropo (Rodríguez, 1982).

El perianto está formado por tres sépalos y tres pétalos. Cada uno de los sépalos se encuentra opuesto a un estambre interno; mientras que los pétalos se localizan opuestos a los estaminodios. Los estambres son 12; cada

estambre tiene cuatro sacos polínicos y cuatro valvas por donde se libera el polen. Los estambres se distribuyen en cuatro verticilos, con tres miembros por verticilo; la serie interna está reducida a estaminodios, los cuales secretan néctar en la primera apertura floral (Bergh, 1975). Los estaminodios son anteras estériles con filamentos cortos y junto con los nectarios son importantes para la atracción de los insectos (Scholefield, 1982). Los tres estambres perfectos internos son los más largos, con anteras que abren hacia afuera o lateralmente, y unido a la base de cada filamento hay un par de glándulas que secretan néctar (nectarios) en la segunda apertura de la flor; los seis estambres de los dos verticilos externos tienen anteras con dehiscencia interna y carecen de glándulas (Bergh, 1975).

2.4. Número de granos de polen por antera

Estudios realizados en Westfalia, indican que árboles productivos de aguacatero 'Fuerte' presentan flores aparentemente normales, pero que sus estambres no lo son. Por lo cual el polen producido por éstos puede ser inadecuado para obtener desarrollo normal de la semilla y consecuentemente obtener amarre normal y crecimiento adecuado del fruto en árboles receptores de dicho polen (Steyn, 1993).

Schroeder (1955) señaló que el número de granos de polen producidos por una antera que proviene de una misma flor es aproximadamente constante sin tener en cuenta la ubicación del estambre. Además, encontró que el número promedio de granos de polen en flores de aguacatero 'Hass' fue de 7,641

granos y en 'Fuerte' de 4,743, sugiriendo que el clima puede influir en la producción de polen. Por ejemplo, para el cultivar Fuerte conducido bajo diferentes condiciones ambientales, encontró que el número promedio de granos de polen por flor varió desde 4,743 bajo condiciones de costa hasta 9,747 cuando este es cultivado en zonas más altas. Lo cual indica que la producción de polen es más favorable y considerablemente superior en áreas localizadas a mayor altura que a lo largo de la costa (Schroeder, 1953).

Se ha reportado que existe correlación entre la producción de fruta abundante de las variedades y su producción de polen . Al realizar la tinción de los granos de polen de anteras individuales de 13 cultivares de aguacatero, se encontró que en la mayoría de los cultivares observados los granos de polen se tiñeron bien y probablemente fueron viables, ocasionalmente sólo un grano tuvo apariencia anormal. El cultivar Collinson, la cual no se cultiva comercialmente en California aparentemente no produce granos de polen normales y falla en la dehiscencia de sus anteras (Schroeder, 1955). También se encontró que el número de granos de polen por antera está directamente relacionado con el tamaño de la misma. En anteras de mediana longitud (1.5 mm) el número de granos varió entre 750 y 850 sin tener en cuenta si las anteras procedían de la misma flor, de diferentes flores del mismo árbol ó de flores de diferentes árboles, produciéndose mayor cantidad de granos en los lóculos proximales, las anteras largas contenían aproximadamente 1,000 granos de polen y las anteras cortas totalizaron aproximadamente 600 granos. Los lóculos defectuosos produjeron granos de polen de forma anormal, con poca capacidad de tinción y

una débil resistencia a la ruptura, al compararse con granos de polen de lóculos normales (Steyn, 1993).

Al respecto Kamazawa (1937; citado por Steyn, 1993) mencionó que los granos de polen cambian fácilmente su forma y tamaño durante diferentes procesos de tinción. Además, se ha reportado que en las lauráceas, el delicado grano de polen tiene una capa gruesa de intina que se hincha fácilmente en un medio acuoso causando ruptura de la delgada cubierta de exina. Así que la medida exacta del diámetro y número de granos de polen por lóculo depende en un alto grado de la visibilidad y de una adecuada tinción que minimice la ruptura de los granos frágiles (Van Zinderen Baker, 1956; citado por Steyn, 1993).

Steyn (1993) obtuvo los mejores resultados al teñir los granos de polen de aguacatero con 0.5 cm^3 de una solución acuosa de violeta de genciana mezclado con 10 mg de glicerina pura.

2.5. Tipos de inflorescencia

Los árboles de aguacatero presentan dos tipos de inflorescencias: determinadas (el brote floral termina con una flor) e indeterminadas (el brote floral termina con un brote vegetativo), produciendo un gran número de flores (1 a 2 millones por árbol), pero sólo un bajo número de frutos se cosechan y el rendimiento representa sólo el 0.001% de las flores (Lovatt *et al.*, 1994).

Las inflorescencias determinadas se encuentran en la mayoría de los cultivares de aguacatero. Generalmente comprenden alrededor del 5 al 20 % de las inflorescencias totales, aunque a veces ninguna de este tipo se encuentra en un árbol. Este tipo de inflorescencia se puede asociar con la condición fisiológica en algunos árboles. Así, en algunos árboles de 'Fuerte' se ha observado que en cualquier momento de plena floración se encuentra un mayor porcentaje de inflorescencias determinadas (Schroeder, 1944).

Lovatt *et al.* (1994) indicaron que posiblemente existen diferencias significativas en el contenido de reguladores del crecimiento, carbohidratos, nitrógeno y otros nutrimentos en los frutos de las inflorescencias indeterminadas con respecto a lo de las determinadas; una o más de estas diferencias pueden jugar un papel clave en el amarre de frutos, tamaño y calidad del fruto en postcosecha.

2.6. Polinización y fecundación

La polinización (transferencia de polen desde las estructuras reproductoras masculinas a los estigmas receptivos) es el primer paso interactivo (masculino - femenino) en el proceso reproductor que conduce a la fecundación (Free, 1993).

La polinización y la fecundación son los dos principales procesos biológicos que tienen influencia para la formación del fruto; definiendo como polinización la llegada del polen (parte masculina) al estigma del pistilo (parte femenina) y a

la fecundación como la fusión del esperma y el huevo dando como resultado el embrión. La formación del fruto puede ser el resultado de flores en donde ocurre la polinización, pero no existe la fecundación lo cual es muy raro en aguacatero; también este proceso puede ser el resultado de flores en donde existe tanto la polinización como la fecundación dando lugar a un embrión y semillas normales (Lovatt, 1993).

La longevidad del óvulo menos el intervalo de tiempo necesario para que el tubo polínico alcance el óvulo y libere el esperma en la ovocélula se conoce como el período de polinización efectiva (Lovatt, 1990).

Robbertse *et al.* (1998) encontraron en flores de polinización libre del aguacatero 'Hass' que las condiciones climáticas, especialmente temperaturas bajas antes y después de la antesis de la fase femenina, tuvieron un efecto adverso en la "polinización efectiva".

La floración y polinización son aspectos importantes en la producción de fruto en la mayoría de los cultivos frutales subtropicales. En Florida la polinización efectiva es crítica para el cultivo del aguacatero (Davenport, 1986).

Para determinar el porcentaje de "polinización efectiva" y desarrollo de tubos polínicos en el pistilo (presencia de germinación de granos de polen sobre el estigma) en los aguacateros 'Fuerte' y 'Ettinger', se recolectaron flores en apertura masculina una vez por semana. Se encontró que el porcentaje de

polinización en estos cultivares es muy bajo durante la floración de los cítricos, la cual coincide con la mayor parte del período de floración del aguacatero. Esta se incrementó posteriormente, alcanzando valores de 40 a 80 %. Se encontró una correlación altamente significativa entre el porcentaje promedio de “polinización exitosa” (tubos polínicos que alcanzan el ovario) y el rendimiento en ambos cultivares. Estos resultados mostraron que la polinización puede ser considerada como un factor importante en la productividad del aguacatero (Gazit y Shoval, 1995). En estudios previos se encontró que para lograr un alto porcentaje de fecundación se requieren 20 ó más granos de polen por estigma (Shoval, 1987).

Entre los frutales no abundan las especies de polinización anemófila, con excepción del nogal, el avellano, el pistacho y probablemente el castaño; el viento ejerce una influencia nula como agente de transporte de polen en las especies entomófilas, por lo que la actuación de los insectos es imprescindible, como se ha comprobado al eliminar la corola de las flores en el momento de su emasculación, con lo cual pierde su atractivo para las abejas, sin observar ningún cuajado en ellas. Las abejas son los insectos polinizantes más efectivos, existen otros que también ejercen esta función, pero son inferiores en número y posiblemente en efectividad (Palazón *et al.*, 1991).

En aguacatero se ha observado que la polinización se lleva a cabo principalmente por abejas (Osuna, 1982; Avilán y Rodríguez, 1995); aunque pueden contribuir otros insectos de las familias Tachinidae, Sarcophagidae,

Syrphidae (Díptera), Vespidae, Apidae, Ichneumonidae (Hymenóptera), Lampyridae y Carabidae (Coleóptera) (Osuna, 1982).

2.6.1. Autopolinización

Algunas especies autofértiles son automáticamente polinizadas con el polen de sus propias flores, a este proceso se le denomina autopolinización (Free, 1993). En la naturaleza, una flor perfecta con estambres y pistilos en la misma inflorescencia es una ayuda, pero no garantiza la autopolinización. La cleistogamia, donde la flor nunca abre, es el método más infalible para asegurar la autopolinización. Un mecanismo menos riguroso, pero altamente efectivo para promover autofecundación es suministrada en aquellas plantas donde las flores abren pero la polinización y la fecundación tienen lugar antes de la apertura (chasogamia) (Welsh, 1981).

En el cultivo del aguacatero existen amplias evidencias de autopolinización. Noches frescas o mañanas nubladas retrasan la apertura y el cierre de flores en la mañana. Tal retraso puede resultar en la ocurrencia de flores con apertura femenina y apertura masculina en árboles del mismo cv. durante las primeras horas de la tarde. Como consecuencia de este traslape de estados de floración puede ocurrir la polinización "cerrada" donde el polen es transferido de flor a flor en el mismo árbol ó cultivar. Esta ha sido considerada la principal forma de

autopolinización, especialmente en bloques sólidos de un cultivar, tal como ocurre en California (Bergh y Gustafson, 1958).

En cinco cultivares de aguacatero, Ish-Am y Eisikowitch (1991) observaron diariamente un período bisexual, lo cual puede posibilitar una eficiente polinización intra-cultivar.

Contrariamente al concepto generalmente aceptado de que la autopolinización puede ocurrir únicamente entre flores sobre el mismo árbol o cultivar cuando se traslapan los estados de floración, los datos obtenidos en experimentos conducidos en Florida demostraron que el principal modo de transferencia de polen fue por verdadera autopolinización dentro de las flores. Estos resultados demostraron no solamente que las flores son autopolinizadas durante el Estado II (apertura masculina), sino también que no son requeridos los insectos polinizantes. Finalmente señalaron que en Florida la autopolinización en estado masculino, es el principal medio de polinización de los cultivares comerciales (Davenport *et al.*, 1994).

La autopolinización en Estado II (apertura masculina) ha sido observada en Israel, con clima mediterráneo seco, pero se reporta que bajo estas condiciones los tubos polínicos no crecen (Davenport y Lahav, 1992). Sedgley (1977a) también observó que hubo autopolinización en flores de aguacatero en estado masculino pero los tubos polínicos no alcanzaron el ovario.

Según Bekey (1992) los frutos provenientes de autopolinización son abortados más rápidamente que los frutos provenientes de polinización cruzada. Experimentos realizados en Quillota, Chile e Israel mostraron que 'Hass' fue un débil autopolinizador, siendo fácilmente desplazado por el polen de otras plantas progenitoras, cuando se encontró asociado con otros cultivares (Gardiazabal y Gandolfo, 1995; Guil y Gazit, 1991).

Robbertze *et al.* (1998) al evaluar el efecto de la polinización y el papel de las abejas en el rendimiento de 'Hass', encontraron que los rendimientos en árboles cubiertos y con presencia de abejas en su interior, fueron significativamente más altos que en aquellos sin abejas.

2.6.2. Polinización cruzada

Con frecuencia las flores reciben polen de otras plantas de la misma especie; sobre todo cuando existen mecanismos que conducen a la polinización y fecundación cruzadas (p. ej. dioecia, dicogamia, esterilidad, incompatibilidad sexual, etc.). En aguacatero el libre cruzamiento se asume como el principal medio de polinización debido al comportamiento de sincronía dicogámica, especialmente en huertos intercalados con varios cultivares (Davenport *et al.*, 1994). La polinización cruzada en el aguacatero ocurre únicamente durante el Estado I (apertura femenina) realizada por insectos polinizantes como las

abejas (*Apis mellifera*), este tipo de polinización se realiza por transferencia de polen entre cultivares complementarios (Ellstrand, 1992).

La variabilidad anual de los rendimientos puede explicarse parcialmente por la polinización; sin embargo, esta frecuentemente se acredita como una tendencia natural de “alternancia” de los árboles. Sin embargo, también es posible que los beneficios de la polinización cruzada se presenten con mayor fuerza en algunos años que en otros. En años donde un huerto determinado tiene un considerable traslapo de estados femenino y masculino en las flores, puede ser menos necesaria la polinización cruzada. Pero en años cuando las temperaturas provocan una fuerte separación de estados, es importante tener los dos tipos de cultivares en el huerto. Este argumento podría avalar la plantación de árboles polinizadores como medida de seguridad para años cuando el traslapo de aperturas florales no ocurra (Bekey, 1992).

Ish-Am y Eisikowitch (1995) encontraron que el porcentaje de polinización de 5 cultivares de aguacatero estuvo correlacionado positivamente con la actividad de las abejas, mientras que la contribución de otros insectos, principalmente de moscas fue baja e insignificante. El incremento de la densidad de las abejas en el huerto fue seguida por un incremento en su movilidad, probablemente debido a la alta competición de las abejas, las cuales al volar alrededor causaron un incremento en los porcentajes de autopolinización y polinización cruzada. Al evaluar esos cinco cultivares durante cuatro años, observó que en promedio el 60 a 80 % de los estigmas polinizados con 6 a 10 granos de polen por estigma

se lograron en días con “alta actividad de las abejas” (20 abejas por árbol ó más); sin embargo, únicamente un porcentaje de polinización de 2 a 10 % con 1 a 2 granos de polen por estigma se obtuvo con “baja actividad de las abejas” (menos de 5 abejas por árbol). Los porcentajes de polinización cruzada fueron de 50 a 70 % superiores en árboles cercanos al cultivar donador de polen y mucho menor cuando el donador de polen estuvo alejado más de dos hileras. El número de granos de polen por estigma se correlacionó exponencialmente y positivamente con el porcentaje de polinización, en el cual un promedio de 10 granos por estigma correspondieron al 60 % de estigmas polinizados. Este porcentaje de polinización requiere de al menos 20 a 40 abejas por árbol, representando en promedio más de una visita por árbol.

La polinización en estado masculino se consideraba inefectiva. Sin embargo, Papademetriou (1975a) encontró que en Trinidad la polinización en el estado masculino puede resultar en amarre de fruto.

Gazit *et al.* (1995) al estudiar en Israel la polinización manual de flores de aguacatero en estado masculino en los principales cultivares comerciales ('Fuerte', 'Ettinger', 'Hass', 'Reed' y 'Nabal'), con algunos cultivares antillanos y sus híbridos ('Simmonds', 'Maoz', y 'Ein Harod') y con un cultivar muy productivo ('Gwen') encontraron que generalmente el polen germinó bien cuando se aplicó en el estado masculino; sin embargo, casi siempre, los tubos polínicos no alcanzaron más allá de la parte superior del estilo. Únicamente en 'Ettinger' y 'Ein Harod' los tubos polínicos alcanzaron el ovario (pero no la

nucela). Tres semanas después de la polinización manual en flores en estado masculino de 'Ettinger', 'Reed' y 'Gwen' no se encontraron frutitos normales. Estos resultados muestran concluyentemente que la polinización en el estado masculino en Israel no es efectiva.

Degani *et al.* (1995) encontraron que cuando dos cultivares estuvieron muy próximos, los rendimientos fueron buenos a muy buenos y el porcentaje de frutos provenientes de polinización cruzada fue de 70 a 80 % y de 80 a 100 % en 'Ettinger' y 'Ardith', respectivamente. Estudiando el efecto de la distancia del donador de polen sobre el porcentaje de hibridación, se observó únicamente en 'Ardith' una alta magnitud de flujo de genes de polen provenientes de árboles lejanos de 'Ettinger'. Así, el porcentaje de frutos provenientes de cruza en un huerto de 'Ardith' fue de 84 % a una distancia de 30 m de 'Ettinger' y 94 % en otro huerto a una distancia de 36 m de 'Ettinger'. Esto reconfirmó que 'Ettinger' es un progenitor masculino altamente potente. Además, en 'Ardith' hubo un mayor porcentaje de abscisión de frutos provenientes de autopolinización en comparación con los de polinización cruzada.

2.6.3. Agentes polinizantes

El proceso de polinización siempre requiere de un vector para efectuar la transferencia de polen. Dentro de dichos vectores se incluyen el viento, el agua, insectos, pájaros y mamíferos. En algunas especies que presentan

mecanismos de fecundación cruzada es indispensable introducir agentes polinizantes y plantas donadoras de polen para obtener buenos rendimientos. En algunas especies (p. ej. nogal pecanero, avellano, castaño y pistacho) el viento puede ser el vector principal, pero la mayor parte de los frutales dependen de insectos polinizantes. Los insectos son atraídos por el polen y néctar producidos por las flores y polinizan durante sus visitas (Castillo, 1996). Para los aguacateros, Free (1993) mencionó que aparentemente no son polinizados por el viento y requieren del transporte activo del polen por insectos, particularmente abejas.

Las flores del aguacatero son poco atractivas para las abejas, aunque un árbol en plena floración puede ofrecer a las abejas cantidades similares de néctar y polen como sus competidores. Sin embargo, nuevas evidencias, indican que la poca atracción de las flores de aguacatero puede deberse a que su polen y néctar se adaptan poco a las necesidades de las abejas (Ish-Am y Eisikowitch, 1998).

Las flores del aguacatero son visitadas por muchos insectos, tales como abejas de diferente tipo, moscas y avispas, pero la abeja europea muestra ser el insecto responsable de por lo menos 80 a 95 % de la polinización en aguacatero y de la mayor parte del polen acarreado por hora. El uso de abejas en el aguacatero no obstante presenta algunos problemas prácticos. La búsqueda estricta del polen no es la razón para visitar las flores en el estado femenino. Las abejas prefieren los cítricos y muchas flores silvestres a las del

aguacatero. Además, los granos de polen del aguacatero son grandes y esféricos, y las abejas podrían utilizar azúcar y enzimas de la carga de polen. La carga de polen de mostaza es un competidor primario de las visitas de las abejas durante la floración del aguacatero. Observaciones hechas en Israel indican que las abejas pueden abandonar un huerto de aguacatero durante el período de floración de árboles de cítricos cercanos (Schroeder y Hofshi, 1998).

El mejor momento para la introducción de las abejas en el huerto es cuando se tenga 10% de floración. No es necesario mantener las abejas en el huerto hasta el final de la floración (Bekey, 1992).

Dos aspectos del comportamiento de las abejas afectan su efectividad como polinizantes. Muchas especies de estas se especializan en coleccionar polen y néctar de pocas especies de plantas. Esta es una ventaja si la planta es de aguacatero. Otras abejas, como la abeja melífera y abejorros visitan un amplio rango de flores diferentes. Esto es bueno si estos visitan flores de aguacatero, pero malo si prefieren visitar otros cultivos o plantas silvestres que les ofrezcan mejor retribución. Sin embargo, individualmente las abejas, en especial las sociales como la abeja melífera, se especializan dentro de sus vuelos de trabajo a coleccionar únicamente néctar o polen, lo cual limita su efectividad como insecto polinizante de cultivos como aguacatero donde el polen únicamente está disponible en algunas flores. Muchos agricultores han observado que en años en los cuales existe mal tiempo durante la floración del aguacatero, es decir moderadamente frío, se cosechan pocos frutos. Una posible

interpretación de esto es que el frío limita el vuelo de los insectos polinizantes. Sin embargo, las temperaturas frías afectan a los árboles de aguacatero tanto como a los insectos polinizantes. Se ha observado que muchos de los frutos amarran tardíamente al final de la temporada de floración donde las temperaturas diarias promedio oscilan entre 15 y 16° C, mientras la densidad de los insectos fluctúa un poco pero no parece que la escasez de estos pueda explicar el patrón de amarre de frutos (Visscher y Gavin, 1998). Contrariamente, Robbertze *et al.* (1998) mencionaron que las abejas juegan un papel importante en la polinización del aguacatero y que sin ellas el amarre de fruto es muy bajo.

Las abejas desarrollan mayor actividad cuando la temperatura ambiente se encuentra comprendida entre 15 y 26° C. Su actividad decrece al descender la temperatura hasta llegar a anularse por debajo de los 10 a 12° C. Tampoco realizan vuelos ni actividad polinizadora en períodos de lluvia o con vientos superiores a 24 km·h⁻¹ (Palazón *et al.*, 1991).

Estudios realizados en Westfalia indican que existen insectos polinizantes alternativos que podrían incrementar el porcentaje de polinización si su densidad de población pudiera incrementarse. Un incremento en el uso de insectos polinizantes alternativos podría además reducir la dependencia de un solo polinizante en el aguacatero (Eardley y Mansell, 1996). Además, se ha observado que las pequeñas abejas carpinteras y las moscas tienen el

potencial para llegar a ser polinizantes de importancia, debiéndose incrementar sus números drásticamente. Las pequeñas abejas carpinteras transportan algo de polen en sus setas y en la parte ventral de su cuerpo. Durante un estudio se encontró que la posición del polen transportado y el tamaño pequeño de estas abejas (6 a 9 mm de largo) posiblemente hace a una pequeña abeja carpintera un potencial y eficiente polinizante de las pequeñas flores del aguacatero más que a una abeja melífera individual (Eardley y Mansell, 1993).

Para considerar a un insecto polinizante ideal para el aguacatero, primero debe existir en la misma área donde crecen los árboles y debe ser activo en la temporada que florece la especie. Si visita las flores, debe ser atraído en ambos estados de apertura floral, femenina y masculina y por lo tanto, si colecta polen de las anteras de las flores en estado masculino, se transfiera a los estigmas de las flores en estado femenino. El polinizante ideal debe tener la capacidad de vuelo dentro de un intervalo amplio que le permita el contacto con los diferentes árboles. Los insectos pueden ser grandes, siempre y cuando el tamaño permita el contacto con las anteras, así como la colecta de néctar puesto que la producción de néctar se da en el estado femenino. El insecto polinizante debe presentar el cuerpo cubierto de pelo para que permita la adhesión de los granos de polen. Los granos de polen del aguacatero son relativamente grandes y pegajosos. Esta es la razón por la cual los insectos lo acarrean y no el viento, y cuando los insectos son excluidos el amarre de frutos en los árboles es muy bajo (Kirk y Sherman, 1998).

2.6.4. Polinizadores

En ambientes donde la polinización cruzada puede incrementar el rendimiento y amarre de fruto, es necesario plantar gran número de árboles de tipo floral opuesto a distancias cercanas, teóricamente cada tres árboles para obtener mejores resultados (Ish-Am, 1994).

Desafortunadamente al tener diferentes cultivares en un mismo bloque, uno de los cuales tiene bajo valor comercial, complica el manejo y cosecha del huerto. Los agricultores convencionalmente instalan polinizadores en líneas y cuentan con abejas para el cruzamiento entre líneas para la polinización cruzada. Únicamente cruzan un porcentaje limitado de abejas entre las líneas de árboles, este porcentaje se incrementa con la velocidad del viento (Schroeder y Hofshi, 1998).

La necesidad de intercalar polinizadores del grupo B en plantaciones de 'Hass' es nuevamente considerada a la luz de investigaciones recientes. Por un tiempo se pensó que 'Hass' no necesitaba de polinizadores debido a que la producción en bloques únicos era aceptable. Sin embargo, ahora se sabe que polinizadores del grupo B como 'Bacon' en California y 'Ettinger' en Israel pueden incrementar la producción de 'Hass' notablemente. En Tucumán se recomienda intercalar con plantas del cultivar Tonnage, perteneciente al grupo B. De acuerdo a los trabajos realizados en Australia, 'Hass' como cultivar del grupo A se adaptaría mejor a temperaturas bajas durante la floración. El

intervalo inferior estaría en 17° C aunque con temperaturas de 25° C se presenta un mejor desarrollo del tubo polínico (Foguet *et al.*, 1994).

Según los experimentos realizados por Guil y Gazit, (1991) en tres huertos previamente plantados con solo 'Hass' y bordeados con 'Ettinger', durante 4 años mostraron un incremento significativo del rendimiento cerca del cultivar Ettinger. Este efecto fue significativo por arriba de 18 m de distancia y no significativo mientras se incrementaba la distancia. Las filas vecinas a 'Ettinger' produjeron de 17 a 20 t·ha⁻¹ por año. A distancias mayores de 50 m el rendimiento se redujo a niveles de 8 a 10 t·ha⁻¹, por arriba de esa distancia y arriba de las últimas filas en ausencia de algún polinizador, el nivel del rendimiento disminuyó arriba de 5 t·ha⁻¹. Este efecto se observó en los tres huertos durante cada año. Además, los análisis isoenzimáticos mostraron un claro efecto de que el 90 % de los frutos de 'Hass' se generaron como resultado de la polinización de 'Ettinger'. También muestran efectos polinizadores de 'Nabal', 'Reed', '0028' y 'Horshim' sobre el rendimiento de 'Hass', pero menores que los de 'Ettinger'. Estos análisis probaron la debilidad del cultivar Hass como autopolinizador.

Robbertze *et al.* (1998) observaron que el cultivar Hass, bajo condiciones de polinización libre en Sudáfrica, disminuyó su rendimiento cuando se distanció más del polinizador 'Ettinger'. Además, confirmó que 'Ettinger', pero también 'Fuerte' y 'Bacon' son polinizadores efectivos de 'Hass'. En Quillota, Chile se

encontró que los mejores polinizadores para 'Hass' fueron 'Edranol' y 'Zutano' (sin diferencias significativas), seguidos por el cultivar Bacon, el cual mostró menor rendimiento en comparación con los anteriores, pero en realidad presentó resultados muy superiores al de 'Rincon' (Gardiazabal y Gandolfo, 1995). En España, Martínez *et al.*, (1999) observaron que el traslapo de la fase femenina y masculina es muy breve, en particular en 'Hass'; señalan la necesidad de polinizadores para maximizar la polinización de este cultivar y recomiendan emplear al 'Fuerte' como polinizador por su mayor coincidencia en floración, por tener ciclos florales complementarios, frutos de gran calidad y presentar un período de recolección consecutivo.

2.7. Fase progámica

2.7.1. Deposición e hidratación de los granos de polen

El grano de polen después de adherirse a la superficie estigmática sufre una especie de "examen de paso". Si es aceptable se hidrata y elabora el tubo polínico que penetra a través del estilo hasta alcanzar el óvulo y fecundar (Dumas *et al.*, 1985).

Una vez que el polen ha alcanzado el estigma, este debe germinar y crecer a través del estilo hasta el ovario para fecundar el óvulo. En la mayoría de los frutales la producción de una secreción copiosa (estigmas húmedos) asegura la germinación de suficientes granos de polen para fecundar a los óvulos. La

fecundación incompleta resulta en poco amarre de frutos y frutos deformes (Sedgley, 1986; Sedgley y Annells, 1981; Sedgley y Grant, 1983). Además, se ha observado que los estigmas húmedos se caracterizan por secretar un exudado, en el cual se encuentran: agua, lípidos, fenoles, azúcares y minerales. Los lípidos protegen a los granos de polen de la desecación; los fenoles inhiben la germinación de esporas ajenas; los azúcares, agua y minerales son utilizados como sustrato para la geminación (Kapil y Bhatnagar, 1975).

2.7.2. Germinación de granos de polen

La germinación del grano de polen y el crecimiento inicial del tubo polínico dependen de la síntesis de proteínas y de la presíntesis de ARNm, lo cual *varía* con las especies de plantas. Algunas de las proteínas, cuyas actividades se requieren para la germinación, siempre están presentes en el grano de polen maduro. En la mayoría de plantas que liberan polen bicelulares después del crecimiento del tubo, la división de la célula generativa en dos células espermáticas depende de los nuevos ARNm sintetizados, posterior al crecimiento del tubo polínico. El grupo de ARN mensajeros que se presentan en el grano de polen durante la antesis son el producto de aproximadamente 20,000 genes diferentes, de los cuales únicamente 10 % puede estar en el grano de polen. Muchos de estos genes se activan tardíamente durante el desarrollo del polen, después de completar la mitosis de la microspora (Joseph, 1993).

En los experimentos realizados para estudiar la polinización del aguacatero se observó que en promedio germinaron 66 granos de polen sobre el estigma (Sedgley, 1976).

2.7.3. Desarrollo de los tubos polínicos en el estilo

Los tubos polínicos interaccionan de inmediato con los tejidos del pistilo. Un argumento importante para considerarse en el crecimiento del tubo polínico es una célula móvil. Se supone que el volumen del citoplasma del tubo polínico se mantiene constante durante la extensión del mismo y que las partes más viejas del tubo son bloqueadas por las deposiciones de calosa (Joseph, 1993).

Papademetriou (1975a) mencionó que la inadecuada polinización (uno ó pocos granos sobre el estigma) origina variación en el desarrollo del tubo polínico, pudiendo reducir la producción del cultivo. En tales casos algunos tubos polínicos pueden tener un desarrollo limitado, de manera que ellos nunca pueden alcanzar el óvulo, a causa de un probable desarrollo lento o quizá un retraso en la germinación del polen, cuando estos alcancen el óvulo es posible que la ovocélula no esté en buenas condiciones para la fecundación.

El crecimiento del tubo polínico a través del estilo es altamente dependiente de las temperaturas. En aguacatero la temperatura ideal para el crecimiento del tubo polínico es de 25°C y se reduce severamente abajo de 20°C y arriba de

30°C (Sedgley, 1977b, 1986; Sedgley y Annells, 1981; Sedgley y Grant, 1983). El crecimiento del tubo polínico hasta la base del estilo es rápido (tres horas), pero la penetración del óvulo por el tubo polínico no ocurre sino hasta 18 a 24 horas después de la polinización (Sedgley, 1979).

Sedgley (1976) observó que en 'Fuerte' los tubos polínicos penetraron el estigma pero aproximadamente la mitad hincharon sus ápices desarrollando no más allá de la base del estigma. La reducción en el número de tubos continuó hasta aproximadamente la mitad ó las 3/4 partes inferiores del estilo (1.75 a 2.5 mm), un solo tubo llegó a alcanzar el ovario que contenía un saco embrionario. El 50 % de los ovarios observados presentó dos sacos embrionarios en un óvulo y 8 % de éstos presentó dos tubos polínicos; lo cual sugiere que existe control del saco embrionario sobre el desarrollo del tubo polínico. Además, se ha encontrado que existen dos posibles mecanismos para el control del crecimiento del tubo polínico en el estilo, ambos de los cuales involucran estimulación positiva por el saco embrionario, para asegurar la atracción por lo menos de un tubo polínico. El primero es la disponibilidad de nutrimentos para el crecimiento del tubo y segundo la estimulación directa del crecimiento del tubo por el saco embrionario y la inhibición de éstos por tapones de calosa. Muchos de los tubos que detienen su crecimiento tienen hinchamiento de sus ápices, el cual es un fenómeno comúnmente observado en el crecimiento de tubos polínicos *in vitro*, donde los sustratos disminuyen y los productos del metabolismo del polen incrementan (Tupy, 1960; citado por Sedgley, 1976). Es posible que en el aguacatero la parte baja del estilo contenga suficiente

sustrato disponible para un tubo y que en algunos casos donde se presenten dos sacos embrionarios se provea de sustrato extra para sostener el crecimiento de un segundo tubo polínico para fertilizar otro óvulo (Sedgley, 1976).

Sedgley y Grant (1983) estudiando nueve cultivares de aguacatero encontraron que el crecimiento del tubo polínico en el pistilo fue muy variable, pero únicamente los cultivares cuyas flores abrieron en estado femenino presentaron tubos en el ovario y óvulo. Así, en todos los cultivares del tipo B excepto 'Bacon', el crecimiento del tubo polínico fue detenido en el estilo, mientras que en todos los cultivares del tipo A, y en el cultivar 'Bacon' del tipo B, algunos de los óvulos fueron penetrados por un tubo polínico. Además, no hubo diferencias entre las 24 y 48 horas después de la polinización (Sedgley y Grant, 1983).

Tomer y Gottreich (1975) identificaron fácilmente los tubos polínicos por su fluorescencia amarillo brillante sobre el fondo oscuro del estilo. Los tubos polínicos fueron semejantes a hilos con contornos bien definidos y en su mayor parte uniformes a lo largo del estilo, aunque se observaron algunos tapones de calosa principalmente en la parte superior del estilo. También señalan que las ramificaciones vasculares, las cuales son fuertemente fluorescentes podrían a veces confundirse con tubos polínicos; sin embargo, pueden distinguirse de ellas usando una mezcla de luz fluorescente y luz ordinaria o alternando los dos tipos de luz.

2.7.4. Penetración de los tubos polínicos en el óvulo y el saco embrionario

En las flores del cultivar Fuerte polinizadas en estado femenino, la penetración del óvulo por un tubo polínico se observó en 24 % de los casos evaluados 48 horas después de la polinización. Se pudieron distinguir diferentes estados de penetración; por ejemplo, penetración del tegumento, de las nucelas y del saco embrionario. También se notaron algunas irregularidades en el comportamiento de los tubos polínicos: detención del crecimiento antes de alcanzar el saco embrionario o que el tubo polínico gire alrededor de sí mismo y crezca contrariamente en dirección del estilo. En algunos casos donde los tubos polínicos estuvieron ausentes se observaron áreas fluorescentes de forma irregular en la zona micropilar (Tomer y Gottreich, 1975).

Sedgley (1979) usando microscopio de luz en los cultivares Fuerte y Hass, estudió el crecimiento del tubo polínico, fecundación y desarrollo inicial del embrión y endospermo, observando que el óvulo fue penetrado por un tubo polínico 24 h después de la polinización. Al alcanzar el ovario, el tubo polínico creció a lo largo de la superficie de la pared interna del ovario. Después creció alrededor del funículo, a través del micrópilo en el tegumento interno y entre las células papilares hasta el ápice de las nucelas. Este entró al saco embrionario vía una sinérgida. El núcleo espermático se presentó en el saco embrionario 48 h después de la polinización y la fusión del núcleo polar y núcleo espermático tuvo lugar antes de la fusión del óvulo y el espermatozoide. El núcleo del endospermo fue el primero en dividirse y la formación de la pared

celular ocurrió enseguida de la división. La primera división del cigoto ocurrió a los 5 ó 6 días después de la polinización. En el cultivar Fuerte menos del 20 % de los sacos embrionarios de 1 a 2 fueron penetrados por un tubo polínico, aunque los tubos siempre se observaron en el tegumento o nucelas. En el cultivar Hass más del 60 % de los sacos embrionarios fueron penetrados. Concluyendo que los bajos rendimientos del cultivar Fuerte pueden atribuirse parcialmente al fracaso del tubo polínico para penetrar el saco embrionario.

2.8. Germinación de polen *in vitro*

Sahar y Spiegel-Roy (1984) germinaron exitosamente polen de aguacatero *in vitro* por suspensión de polen en medio líquido con 15 % de sacarosa más solución mineral, seguido por transferencia a un soporte sólido de la misma solución con agar (1 %). La germinación tiene lugar sólo si el polen, es primero suspendido en la solución antes de ser colocado sobre el medio con agar. La temperatura óptima de germinación fue de 25 a 27° C y la adición de calcio al medio parece ser benéfico para la germinación. La mejor germinación *in vitro*, sin embargo, no fue tan buena como la reportada por polinización directa de estigmas. Loupassaki *et al.* (1997) por otra parte, mencionaron que la germinación óptima *in vitro* de los granos de polen de los cultivares Fuerte, Nabal, Ettinger y Bacon ocurrió a 25° C. Aunque hubo diferencias significativas entre los cultivares en el porcentaje de germinación y humedad relativa requeridos para el desarrollo óptimo de los granos de polen. El cultivar más sensible a la humedad relativa fue Fuerte, en el cual la germinación de granos

de polen aumentó de 11.4 a 40 % de humedad relativa hasta aproximadamente 50 % después de una hora a 100 % de humedad relativa. El porcentaje de germinación de granos de polen de 'Nabal' fue alto a 40 % de H.R. y no se incrementó al aumentar la humedad relativa. El incremento en la humedad relativa ayudó a conservar la viabilidad del polen de aguacatero. A 30° C y 5 % de H.R. los granos de polen de 'Fuerte' rápidamente perdieron su capacidad para germinar; con 40 % de H.R. durante una hora, la germinación se redujo drásticamente comparado con el polen que se mantuvo en un ambiente saturado de humedad, donde ésta no fue afectada durante las primeras 24 horas.

Observaciones sobre la germinación de granos de polen y desarrollo de tubos polínicos en medios artificiales (*in vitro*) han revelado que el ácido bórico estimula ambos eventos; el efecto del ácido bórico en la germinación de granos de polen y desarrollo de tubos polínicos es mucho más marcado que el de cualquier hormona, vitamina u otra sustancia química (Pimienta, 1987). Trabajos recientes, han verificado que el efecto del ácido bórico se debe a la influencia ejercida por el boro en el metabolismo de la pared celular, incluyendo la biosíntesis de celulosa y sustancias pépticas (Wainwright *et al.*, 1980).

2.9. Viabilidad del polen

En condiciones naturales los granos de polen del aguacatero se conservan viables 150 horas después de ocurrida la dehiscencia de las anteras. En esta

especie la longevidad del polen es un factor de considerable importancia, sobre todo cuando las variedades de árboles individuales en una plantación presentan simultaneidad en la apertura de las flores tipo A y B (Papademetriou, 1975b). Sedgley (1981) almacenó polen exitosamente durante un mes a 4° C a 1 ó 23 % de humedad relativa.

Inoue *et al.* (1992) al estudiar la morfología y la fertilidad del polen de los aguacateros 'Zutano', 'Bacon', 'Fuerte' y 'Méxicola' observaron que los granos de polen secos fueron principalmente de forma esférica con una superficie espinosa o granular dependiendo de los cultivares y estos fueron binucleados. Los poros no germinativos fueron tenues en la superficie de los granos de polen. El porcentaje de fertilidad durante la floración fue mayor que antes de la floración en cada cultivar y este fue más alto en 'Fuerte', seguida de 'Zutano', 'Bacon' y 'Mexicola', respectivamente. El tamaño de los granos de polen varió de 25 a 72 μm de diámetro en todos los cultivares y los granos de polen fértiles fueron más grandes que los estériles. Se consideraron granos fértiles cuando alcanzaron medidas de 44, 39 y 37 μm , para 'Fuerte', 'Zutano' y 'Bacon', respectivamente. El porcentaje más alto de fertilidad y el mayor tamaño del grano de polen correspondió a los cultivares con mayor rendimiento de fruto.

El polen de la mayoría de las plantas con estigmas húmedos es liberado en el estado binuclear antes de la formación del gameto. Sin embargo, en 'Fuerte' se determinó que alrededor del 80 % del polen fue liberado en estado de microspora o unicelular. Este polen inmaduro liberado puede contribuir a la baja

viabilidad del polen y resultar en poco amarre de fruto. Durante las pruebas de germinación *in vivo* se obtuvo una germinación máxima de 20 % (Coetzer y Robbertse, 1987).

Norton (1966) probó 12 sales de tetrazolium para determinar el más efectivo para la tinción de granos de polen de ciruelo y determinar su viabilidad. El compuesto que dio los mejores resultados fue el bromuro de 3(4,5-dimethyl thiazolyl 1-2) 2,5-diphenyl tetrazolium (MTT). La correlación del porcentaje de granos de polen teñidos con el porcentaje de granos germinados sobre un medio de sacarosa-agar fue positiva y altamente significativa ($r = 0.99$).

Para determinar la eficiencia como indicadores de la viabilidad del polen almacenado de durazno se probaron cinco tinciones. Las correlaciones entre el porcentaje de polen teñido y el porcentaje de germinación fueron bajas y no significativo para el azul de anilina, yodo-potasio-yodo (IKI), tetrazolium azul-nitro y carmín-propiono; sin embargo, la correlación entre el porcentaje de tinción y el porcentaje de germinación fue positiva y significativa ($r = 0.69$) para bromuro 3(4-5 dimethyl thiazolyl 1-2) 2,5 diphenyl tetrazolium (MTT). El porcentaje de polen germinado se determinó espolvoreando los granos sobre un medio de cultivo de agar (bacteriológico) esterilizado, conteniendo 15 % de sacarosa, $100 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ de Boro, $200 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ de Ca y $200 \text{ mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ de Mg. El polen se puso a germinar con 100 % de H.R. y a temperatura ambiente durante tres horas (Werner y Chang, 1981).

2.10. Mecanismos que conducen a la polinización cruzada

2.10.1. Dicogamia

El término dicogamia indica que las partes femeninas y masculinas de una flor maduran en diferente tiempo. Este comportamiento es sincronizado en todas aquellas flores que abren en un árbol; las flores son funcionalmente femeninas en una parte del día y funcionalmente masculinas durante otra parte del mismo día. En el aguacatero la dicogamia es protogínica en cada flor, el pistilo madura antes que los estambres (Bergh, 1969).

La sincronía dicogámica se ha definido con mayor amplitud, desglosándose en una serie de términos como son: diantesis (cuando la flor presenta doble apertura; normalmente en una flor se presenta la antesis o sea una sola apertura). Protoginea (maduración fisiológica adelantada del gineceo). Sincronía se refiere a que un grupo de cultivares actúa como femeninas por las mañanas, en tanto que otro grupo actúa como masculinas durante el mismo período; por las tardes se presenta una inversión del fenómeno; éste mecanismo facilita la polinización cruzada. Dicogamia, cuando la flor actúa desde el punto de vista funcional como unisexual, según se trate de la primera o segunda apertura, por lo que hay tendencia hacia la polinización cruzada (Díaz, 1979).

El aguacatero presenta una dicogamia protogínica, existen dos tipos florales (A y B). En un trabajo realizado en diversos cultivares del tipo A ('Reed', 'Wurtz', 'Rincon' y 'Jalna') y del tipo B ('Bacon', 'Rayan', 'Edranol', 'Sharwill' y 'Hazzard'), en el cual se utilizaron temperaturas de 17° C durante el día y 12° C durante la noche, se encontró que la mayor parte de las flores de los cultivares del tipo A presentaron el estado femenino, seguido por un estado masculino. En los cultivares del tipo B sólo las flores de 'Bacon' tuvieron la apertura femenina, ya que el resto de los cultivares sólo presentaron la apertura masculina (Sedgley y Grant, 1983).

2.10.2. Incompatibilidad sexual

La incompatibilidad es considerada como la incapacidad completa o parcial de un polen fértil de especies hermafroditas o monoicas de angiospermas a autopolinización (Harrison, 1975).

La autoincompatibilidad es la incapacidad de una planta que produce óvulos y polen viables para cuajar semillas cuando es autopolinizado. Ello se debe a que el propio polen no es capaz de llegar hasta el óvulo para proceder a su fecundación; en los árboles frutales el motivo es, en general, la detención del crecimiento de los tubos polínicos. Los frutales autoincompatibles, con la excepción del avellano, presentan el sistema de autoincompatibilidad

gametofítica, común entre rosáceas, familia que comprende la mayoría de los frutales (Socias, 1987).

La autoincompatibilidad se centra alrededor de la idea de que el polen que es incompatible con el tejido estilar suele germinar sobre el estigma, pero no desarrolla a través del estilo o exhibe lento crecimiento del tubo polínico. Generalmente detiene su crecimiento en el tercio medio del estilo (Welsh 1981; Socias, 1987).

La incompatibilidad o compatibilidad está determinada por un sistema genético que opera en masculino y femenino. La funcionalidad del sistema está basado sobre una interacción fisiológica entre el polen ($1n$) y el estilo ($2n$). Una serie de alelos múltiples, designado por S gobiernan el sistema. La incompatibilidad puede expresarse en uno de los dos sistemas, gametofítico o esporofítico. En el sistema gametofítico, la incompatibilidad resulta cuando un grano de polen y el estigma tienen un alelo en común. Por ejemplo, la cruza S_1S_2 (femenino) x S_1S_2 (masculino) debe ser incompatible porque el polen tendría S_1 ó S_2 , los cuales son comunes con el tejido estilar. Sin embargo, la cruza (femenino) S_1S_2 x S_1S_3 (masculino) debe ser compatible y producir progenie S_1S_3 y S_2S_3 porque el gameto masculino contiene S_3 funcionando normalmente. La cruza recíproca también es compatible y produce progenie S_1S_2 y S_2S_3 . El sistema esporofítico contiene una forma de dominancia en la cual S_1 es dominante sobre todos los otros alelos; S_2 es dominante sobre todos excepto S_1 y así sucesivamente. En el sistema esporofítico la cruza S_1S_2 (femenina) x S_1S_3 (masculina) es

incompatible debido al efecto de dominancia que hay en la parte masculina, el cual determina que tanto el alelo S_1 como el S_3 del polen tengan el fenotipo de S_1 . Como S_1 es incompatible con el tejido estilar (S_1S_2) no ocurre la fecundación. La crucea recíproca es también incompatible. La diferencia entre los mecanismos esporofítico y gametofítico se considera que se basa sobre la oportunidad de desarrollar una sustancia bioquímica asociada con la respuesta de incompatibilidad del polen. Esto puede ocurrir mucho después durante el desarrollo del polen en el sistema gametofítico y muy temprano en el sistema esporofítico (Welsh, 1981).

La incompatibilidad puede ser tan eficiente para forzar la polinización cruzada como la dioecia; sin embargo, la incompatibilidad tiene la ventaja de que todas las plantas pueden producir semilla, contribuyendo por lo tanto, en forma directa a la propagación de la especie. La incompatibilidad cruzada es la inhabilidad de una planta para formar semilla cuando es cruzada con "ciertas" plantas, aún en el caso de que pueda formar cigotos normales cuando es polinizada por otra planta y su polen pueda fecundar otras plantas. Excepto para las especies o cultivares autocompatibles, la necesidad de polinización cruzada obliga a la plantación conjunta de dos cultivares que tienen que reunir una serie de características, empezando por su calidad, ya que no se puede pensar en un cultivar base y otro polinizador, sino que esté debe ser también comercialmente válido, excepto en las especies dioicas, en las que la presencia de cultivares masculinos, sin valor comercial, es una exigencia ineludible.

Además, los dos cultivares deben ser intercompatibles, aunque los casos de interincompatibilidad, excepto en cerezo, son raros (Socias, 1987).

2.11. Doble fecundación

Al llegar el tubo polínico al óvulo tiene lugar la doble fecundación. Por un lado se realiza la fusión de un núcleo espermático del tubo polínico con la ooesfera del saco embrionario, para dar lugar al cigoto, que finalmente dará lugar al embrión. El otro núcleo espermático se fusiona con los núcleos polares para dar lugar al endospermo triploide. Los tejidos del ovario dan lugar al fruto. Para lograr un buen amarre es necesario que los gametos tengan una buena viabilidad. Para ello es necesario que los polinizadores sean de buena calidad. Hay variedades con una tendencia a la esterilidad femenina, pero ésta suele venir condicionada por factores externos que pueden alterar la viabilidad de los gametos como las heladas o el empleo de productos químicos en floración (Socias, 1987).

2.12. Factores que influyen sobre la polinización y fecundación

Los procesos de polinización del aguacatero están influenciados por muchos factores y esto es crítico para la productividad, particularmente en ambientes marginales que son diferentes a los lugares de origen del aguacatero como Guatemala y el Sur de México. Condiciones climáticas de temperatura y

humedad son los principales factores que afectan la polinización y fecundación (Schroeder y Hofshi, 1998).

2.12.1. Condiciones ambientales

2.12.1.1. Temperatura

La temperatura es el factor más importante que influye sobre el comportamiento floral y polinización en aguacatero. La dicogamia es afectada por la temperatura. Cuando a la apertura de las flores le precede un día frío ó nublado, con niebla ó lluvia por la noche y, durante la apertura se mantienen estas condiciones, el tiempo para los dos períodos de apertura en los cultivares del tipo A es exactamente inverso: el polen es liberado durante la mañana y la fase femenina se presenta durante la tarde. Por otra parte, los cultivares del tipo B, en condiciones ambientales similares, no tienen el estado femenino y las flores no abren completamente. El frío y la lluvia retrasan la apertura y el cierre de las flores; con temperaturas altas y luz solar el ciclo floral desarrolla rápidamente. Los cambios en el clima ocasionan el traslapo de los estados de apertura floral durante cortos intervalos de tiempo facilitando la transferencia de polen desde flores en estado II (masculinas) al estado I (femeninas). Altas temperaturas estimulan el crecimiento vegetativo a expensas del desarrollo reproductor de las flores y los frutos que desarrollan son abortados por el árbol.

Bajas temperaturas a su vez son particularmente nocivas, ya que menos del 10 % de las flores presentan estado femenino (Cautín, 1996).

Con temperaturas menores de 17° C durante el día, hay ausencia del estado femenino en la mayoría de los cultivares del tipo B. Las flores abren sólo una vez en estado masculino y éstas son funcionalmente femeninas pero estériles. Los cultivares del tipo A son más tolerantes a bajas temperaturas durante la floración que los cultivares tipo B. Sin embargo, el ciclo floral se prolonga y el estado femenino frecuentemente ocurre durante la noche, cuando la polinización de insectos no es activa. El desarrollo del tubo polínico y la fecundación exitosa de la ovocélula ocurre únicamente en flores en estado femenino. La temperatura óptima para la floración, polinización y amarre de frutos es de 25° C. Hay diferencias en fertilidad femenina, el cultivar Fuerte tiene mayor proporción de sacos embrionarios defectuosos que el cultivar Hass (Sedgley, 1987).

Bajo condiciones de temperatura controlada de 33° C durante el día y 28° C durante la noche y 25° C durante el día y 20° C durante la noche, las flores de 'Fuerte' (B) abrieron por la tarde como femeninas y al día siguiente por la mañana como masculinas con algún traslapo de los estados femenino y masculino a temperaturas de 25/20° C. A temperaturas de 17° C durante el día y 12° C durante la noche muy pocas flores tuvieron estado femenino, la mayoría abrió sólo una vez como masculino. La duración del período de floración disminuyó con un aumento de temperatura. A temperaturas de 33° C

durante el día y 28° C durante la noche, el crecimiento reproductor fue inhibido a favor del crecimiento vegetativo, con presencia de partes florales pequeñas y abscisión de yemas y flores. El porcentaje de desarrollo del tubo polínico se incrementó al aumentar la temperatura, pero frecuentemente se observó un desarrollo anormal a temperaturas de 33/28° C. Los tubos polínicos no lograron penetrar el ovario a 17° C durante el día y 12° C durante la noche. El desarrollo del endospermo y embrión ocurrió a 25/20 pero no a 33/28 ó 17/12° C, aunque fue evidente un efecto positivo de la polinización sobre el amarre a 33/28° C. Este efecto también se dio a 25/20° C pero no a 17/12° C. El régimen de temperaturas más conveniente para el comportamiento floral, desarrollo del tubo polínico y desarrollo del embrión fue de 25/20° C (Sedgley, 1977b). Papademetriou (1975a) bajo condiciones de Trinidad (temperatura de 32.5° C $\pm$ 0.8° C) observó que el tubo polínico penetró el ovario en una hora.

Las temperaturas bajas que prevalecen durante el período de floración disminuyen la viabilidad del óvulo e incrementan la duración del tiempo que se requiere para que el tubo polínico crezca desde el estigma al óvulo. Así, la duración del período de polinización efectiva se acorta significativamente y se reduce el amarre de frutos. Temperaturas calurosas durante el período de floración aumentaron tanto la longevidad del óvulo como la velocidad de desarrollo del tubo polínico. Estos incrementos corresponden al período de polinización efectiva y al amarre de fruto (Lovatt, 1990).

En los cultivares de aguacatero del tipo A ('Reed', 'Wurtz', 'Rincon' y 'Jalna') y del tipo B ('Bacon', 'Ryan', 'Edranol', 'Sharwil' y 'Hazzard') bajo cámaras de crecimiento a 17° C durante el día y a 12° C durante la noche a una intensidad de luz de $400 \mu\text{m}^2 \cdot \text{s}^2$ (400 a 700 nm), la mayoría de las flores de todos los cultivares del tipo A y del cultivar 'Bacon' tipo B presentaron los estados masculino y femenino. Ninguna de las flores de los otros cultivares tipo B presentó estado femenino, pero abrieron únicamente en estado masculino. La polinización manual resultó en algunas penetraciones del óvulo en los cultivares con flores en estado femenino. En aquellas flores con sólo estado masculino los tubos polínicos no crecieron más allá del estilo. La conservación de la fertilidad bajo condiciones de temperaturas bajas se presentó parcialmente en los cultivares del tipo A (Sedgley y Grant, 1983).

2.12.1.2. Viento

El viento es otro factor climático de importancia en la producción de aguacate, ya que provoca una serie de alteraciones en el amarre y calidad de los frutos. Vientos superiores a $10 \text{ km} \cdot \text{h}^{-1}$ limitan el vuelo de los insectos y si estos vientos son secos y deshidratantes también influyen negativamente en la fecundación. Además, si las condiciones ventosas son frías, puede reducir el amarre por restricción del vuelo de las abejas y del crecimiento del tubo polínico (Cautín, 1996).

Al respecto, se señala que pequeñas variaciones de temperaturas pueden determinar que en un huerto cuajen flores y en otro huerto vecino no, o que dentro de un mismo huerto no cuaje bien un cultivar. Estas pequeñas variaciones de temperatura pueden ser creadas por vientos fríos que soplan desde la costa, lo que es frecuente que suceda en la zona de Quillota (V Región, Chile). Esto provoca que en huertos no protegidos del viento no cuajen las flores y haya muy poca fruta. Los estudios han demostrado un beneficio considerable de las cortinas rompevientos de un cultivar polinizador; esto puede deberse al movimiento de polen por las abejas, pero también puede estar relacionado con la distribución del polen por el viento. El microclima en las filas inmediatas a las cortinas es posiblemente más conducente al vuelo de las abejas y al crecimiento del tubo polínico (Cautín, 1996). Acorde con la literatura, el polen de aguacatero es muy pegajoso y pesado para ser transportado por el viento. Sin embargo, ciertos estudios muestran un considerable beneficio del movimiento del viento en un cultivar polinizador (Bekey, 1992).

2.12.1.3. Humedad

Los resultados de diversos experimentos permiten atribuir gran importancia al estado higrométrico de la atmósfera como factor responsable del grado de receptividad del estigma. Cuando la humedad relativa cae por debajo de cierto límite (50 %), comienza a producirse una disminución progresiva de los líquidos del estigma y la germinación de los granos de polen llega a ser problemática o

incluso totalmente imposible. Al respecto, se informa que probablemente existe una correlación entre la deposición de polen y las condiciones de humedad, especialmente considerando la capacidad secante del aire. Al involucrar cultivares del tipo B la variabilidad entre cruzamientos se puede deber a la condición de humedad en el ambiente. En días nublados se observa que la apertura de las flores en estado femenino se retrasa más de tres horas. En los cultivares del tipo B esto significa que el crecimiento del tubo polínico ocurre durante el atardecer, cuando las temperaturas descendentes pueden ser demasiado bajas para un suficiente crecimiento (Cautín, 1996).

2.12.2. Comportamiento Floral

Osuna *et al.* (1985) observaron que en el cultivar 'Fuerte' en Atlixco, Puebla, el estigma de las flores es receptivo tanto en la fase masculina como en la femenina y aparentemente el período de receptividad del estigma es regulado por las condiciones ambientales.

Sedgley (1977a) mencionó que cuando se polinizaron manualmente flores en estado femenino y masculino se presentaron menos tubos polínicos sobre pistilos de flores masculinas. Un tubo penetró al ovario en sólo un pistilo de los 110 polinizados en estado masculino, en comparación con todos los pistilos observados en estado femenino. Las flores polinizadas en el estado femenino se mantuvieron por más tiempo sobre la planta que las flores polinizadas en

estado masculino. No hubo presencia de calosa en los pistilos de las flores en estado femenino pero ésta se presentó en el 46 % de los pistilos en estado floral masculino. Cuarenta y dos horas después de la primera apertura la calosa se presentó en todos los pistilos observados, en asociación con la pared celular de las papilas estigmáticas, el tejido de transmisión, el tejido vascular de la corteza o epidermis o una combinación de estos tejidos. La calosa se presentó más temprano en pistilos polinizados que en pistilos no polinizados, particularmente en el tejido de transmisión. Lo cual sugiere que la reducción del crecimiento del tubo polínico en los pistilos del estado floral masculino del aguacatero está asociado con la presencia de calosa.

2.12.3. Condición de la planta

Otro factor que influye en la polinización es el estado nutricional de la planta. Esto generalmente está asociado con el buen desarrollo de los pistilos. La edad y el vigor del árbol tienen también influencia en el amarre de frutos. En general, un árbol joven falla para amarrar fruto, pero cuando es viejo y menos vigoroso tiene un buen amarre de frutos (Maranto, 1989).

Lovatt (1994a) encontró que la aplicación de urea y boro a la copa del árbol de 'Hass' durante el inicio de la floración incrementó significativamente el crecimiento del tubo polínico y la longevidad del óvulo, comparado con los árboles no tratados. El boro incrementó el número de tubos polínicos que

alcanzan el óvulo en mayor grado que la urea, aunque el aumento no fue significativo.

2.13. Amarre y desarrollo de frutos

El amarre inicial puede definirse como la proporción de flores en las cuales el ovario es estimulado a reiniciar un crecimiento rápido después de antesis. El amarre final puede ser considerado como la proporción de flores que sobreviven al período de competencia (en frutales de clima templado del norte es conocido como caída de junio) y el amarre cosechado puede ser definido como la proporción de flores que son cosechadas como fruto (Goldwin, 1992).

En algunos casos el embrión puede abortar durante el desarrollo, resultando en frutos sin semilla. En mango y aguacatero esto puede ser causado por temperaturas adversas durante el desarrollo del fruto y es una característica indeseable (Sedgley, 1986).

2.14. Factores que influyen sobre el amarre y desarrollo del fruto

El amarre de fruto está influenciado por diversos factores: tipos de inflorescencias, anomalías florales, polinización y fecundación, competencia entre el crecimiento vegetativo y el reproductor, relación fuente-demanda y distribución de fotosintatos, almacenamiento y uso estacional de carbohidratos, nutrición, hormonas y manejo (Castillo, 1996).

La polinización estimula al ovario para empezar a desarrollarse en un fruto, pero la estimulación se agota dentro de un par de semanas y los frutitos se caen (Lovatt, 1990). El período de amarre y caída inicial de fruto es el estado más crítico de desarrollo del ovario desde el punto de vista de crecimiento y producción. El amarre de fruto más exitoso ocurre a temperaturas de 20 a 25° C. Los cultivares de *Citrus cinensis* así como los de aguacatero, experimentan un período de excesiva caída de frutos iniciando desde la floración, continuando en el estado de división celular y en el inicio del estado de crecimiento de fruto caracterizado por alargamiento celular. Durante este período crítico, la retención/caída de fruto en ambas especies se caracteriza por: (i) competencia entre el fruto joven y el crecimiento vegetativo, (ii) sensibilidad a temperaturas extremas y (iii) estrés hídrico (Lovatt, 1990).

Las anomalías florales pueden ser una de las causas del bajo amarre del fruto. En aguacatero Tomer y Gottreich (1978) han encontrado que hasta el 96 % de los óvulos presentan algún problema morfológico. Dentro de las anomalías observadas en aguacatero se incluyen: (1) la presencia de dos óvulos por carpelo, uno del tamaño normal y el otro más pequeño; (2) presencia de doble ovario y doble pistilo, cada ovario conteniendo un óvulo; (3) sacos embrionarios dobles, aunque usualmente sólo uno de ellos es normal; (4) óvulos extra-ovario; (5) posición anormal del óvulo intra-ovario; (6) nucléolos adicionales dentro del saco embrionario (seis óvulos inmaduros que detuvieron su megagametogénesis en alguna etapa de su desarrollo; (7) óvulos sin saco embrionario (Kadman *et al.*, 1974; Tomer *et al.*, 1976; Sedgley, 1980). Inoue y

Takahashi (1991) encontraron que la anomalía más frecuente fue el estilo curvado, seguido por óvulos desnudos y estilos múltiples.

Al polinizar manualmente dos cultivares de cerezo dulce a intervalos de 2 a 3 días desde el estado de balón hasta 10 días después de la antesis, se encontró que el retraso del período de polinización no inhibió la germinación de granos de polen ni el desarrollo del tubo polínico. Parece ser que el factor que limitó la fecundación y amarre de frutos fue la longevidad del óvulo (Stösser y Anvari, 1983).

La floración abundante en aguacatero, mango, litchi y macadamia; el relativamente pobre amarre de fruto y la alternancia de producción o producción irregular son problemas hortícolas comunes en éstos y muchos otros frutales. Se considera que los niveles muy bajos de reservas de carbohidratos en el estado crucial del amarre de fruto y desarrollo afectan negativamente la habilidad del árbol para retener su carga de frutos (Davie *et al.*, 1995). Sin embargo, Finazzo *et al.* (1994) observaron que los fotoasimilados no fueron limitantes, aunque ocurrió la abscisión de flores y frutitos durante y después del período de competición. La disponibilidad de carbohidratos fue suficiente para sostener el crecimiento y desarrollo de los frutitos y hojas durante los estados tempranos del desarrollo reproductor y no limitó el crecimiento de frutos ni estimuló la abscisión de frutos.

Lovatt *et al.* (1994) indican que posiblemente existen diferencias significativas en el contenido de reguladores del crecimiento, carbohidratos, nitrógeno y otros nutrimentos en el fruto de las inflorescencias indeterminadas con respecto a las determinadas; una o más de estas diferencias 'pueden jugar un papel clave en el amarre, tamaño y calidad del fruto en postcosecha. Al respecto, Castillo (1996) mencionó que el amarre inicial de los frutos de las dos inflorescencias podría estar limitado principalmente por azúcares no reductores (fotosintatos), Ca, Mg y B. En otros estudios se encontraron que las inflorescencias determinadas muestran mayor amarre de fruto que las indeterminadas (Bertling y Köhne, 1986).

La floración y el amarre de frutos en aguacatero 'Hass' ocurre principalmente en el momento de baja actividad radical, poca transpiración, baja fotosíntesis y bajas temperaturas; las cuales afectan negativamente la apertura floral, polinización, fecundación y amarre de fruto. A medida que avanza la floración se incrementa la competencia con los nuevos desarrollos vegetativos, cuando las raíces están aún inactivas la competición por agua y nutrimentos se hace más intensa. Uno de estos factores o la combinación de estos reduce al amarre de fruto (Lovatt, 1994b).

Los frutos del aguacatero y cítricos proveen un interesante contraste en distribución de recursos y de interacción fuente:demanda durante el amarre de frutos. La competición vegetativa:reproductora a principios de la primavera limita el potencial de producción del aguacatero, especialmente en los

cultivares vigorosos tales como 'Fuerte'. En contraste a esto, las inflorescencias con hojas en cítricos incrementan el amarre de frutos (Embleton *et al.*, 1959; Blumenfeld *et al.*, 1983; citados por Castillo, 1996).

Mans (1996) indicó que si los niveles de nitrógeno y boro en hojas de 'Hass' están por debajo de los requerimientos aceptados al asperjar una mezcla de éstos se puede incrementar el rendimiento y lograr una mejor distribución del tamaño de fruto. Una aplicación de paclobutrazol (250 mg de i.a por litro) en plena floración incrementó el rendimiento total y el rendimiento de frutos tamaño exportación en árboles jóvenes de 'Hass' (Kremer-Köhne y Köhne, 1996). La aspersion al árbol de ácido giberélico (AG₃) sólo o combinado con dihidrofosfato de calcio ó 6-bencilaminopurina (citocinina) después de la floración total o en la caída de pétalos incrementó el amarre de frutos (Lovatt, 1990).

Sippel *et al.* (1993) encontraron que en aguacatero 'Pinkerton' la fecha de amarre de frutos tuvo un efecto marcado sobre el tamaño final del fruto. Los frutos que amarraron tardíamente tuvieron un porcentaje de desarrollo mucho más rápido que los frutos que amarran temprano, en promedio el potencial que tienen es de 40 mm más largo al final de la estación de crecimiento.

Robbertse *et al.* (1995) señalaron que huertos de 'Hass' intercalados con 'Ettinger' pueden tener mayor porcentaje de amarre de frutos que los huertos de solo 'Hass'.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización del experimento

El presente experimento se llevó a cabo durante los periodos de octubre de 1997 a marzo de 1998 y de enero a abril de 1999 en las parcelas: Terraza 1, Terraza 2 y Bodega 1 del predio la Cruz, pertenecientes a la Fundación Salvador Sánchez Colín–CICTAMEX, S. C., que se encuentra situada aproximadamente a 1 km al sureste de la cabecera municipal de Coatepec Harinas, Estado de México. Geográficamente se ubica a 18°46'38" de latitud norte, 99°46'38" de longitud oeste y a una altitud de 2,140 m.

3.2. Material vegetal

Se utilizaron árboles en floración de los cultivares de aguacatero 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33', los cuales se encuentran establecidos en marco real a 5 x 5, 10 x 10 y 5 x 5 m; con edades de 6, 31 y 19 años, respectivamente. Todos ellos injertados sobre portainjertos criollos de la raza mexicana.

3.3. Diseño experimental

Se utilizaron los diseños completamente al azar (receptividad del pistilo y amarre inicial de fruto en tres estados de apertura floral, efecto del tipo de polinización en el desarrollo del tubo polínico y número de granos de polen por antera), completamente al azar con arreglo factorial 3 x 3 siendo los factores cultivar y tipo de polinización, respectivamente; el arreglo factorial 2 x 3 x 2 siendo los factores año, cultivar y tipo de polinización (amarre inicial de fruto) y el 6 x 3 con factores fecha de muestreo y cultivar para la evaluación de la viabilidad del polen. El diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial 2 x 3 x 2, siendo los factores año, cultivar y estado de apertura floral para el análisis de la polinización abiótica. En todos los casos se utilizaron cuatro repeticiones, siendo la unidad experimental un árbol.

Para realizar los análisis estadísticos fue necesario primero expresar algunos datos obtenidos en campo (amarre de fruto) y laboratorio (número de granos de polen germinados por estigma, número de tubos polínicos que desarrollaron hasta: la parte superior y basal del estilo, al interior del ovario y óvulo, número de flores con tubo polínico en: el estigma, en la parte superior y basal del estilo, en el ovario y óvulo; así como la cantidad de granos de polen viables) a valores porcentuales. Además, para disminuir el error y ajustar los datos a una distribución normal, los porcentajes de viabilidad de polen se transformaron a valores angulares mediante la función $\sin^{-1}\sqrt{x}$. Una vez realizados los análisis

de varianza y comparaciones de medias, estos valores angulares se transformaron nuevamente a valores porcentuales.

Los análisis de varianza se realizaron mediante la aplicación del procedimiento ANOVA de SAS (versión 6.12) y para las pruebas de comparación de medias se utilizaron las pruebas de T ($P \leq 0.05$) y Tukey ($P \leq 0.05$).

3.4. Variables evaluadas

3.4.1. Clima

Se registraron datos de temperatura, humedad relativa y radiación solar durante todo el período de floración mediante un analizador digital (Testor) colocado en el huerto experimental, el cual estuvo programado para registrar las lecturas cada 30 minutos.

Todas las polinizaciones y colectas se llevaron a cabo únicamente cuando las condiciones climáticas (temperatura, humedad y precipitación) fueron adecuadas; es decir, evitando hacerlo en presencia de lluvia e insectos.

3.4.2. Aplicación de insecticidas

Se llevó el registro de todas las aplicaciones de insecticidas en los huertos experimentales, el cual incluye: el nombre comercial e ingrediente activo del insecticida, la concentración, el volumen y la fecha de cada aplicación.

3.4.3. Receptividad del pistilo

Se determinó la receptividad del pistilo en flores de aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'. Para ello manualmente se realizó autopolinización (1997-1998) y polinización cruzada (1999) en los tres estados de floración: apertura femenina, apertura masculina antes de la liberación de polen y apertura masculina al final de la liberación de polen. En cada estado se polinizaron 160 flores (40 flores x 4 árboles). Para efectuar las polinizaciones se cubrieron cuatro ramas por árbol un mes antes de la apertura floral (octubre) con una malla que impidió el paso de los insectos. Para las polinizaciones cruzadas se usaron como fuentes de polen los mismos cultivares. Además, las cruza se hicieron entre cultivares de grupo floral opuesto. Así, 'Hass' (tipo A) se polinizó con polen de 'Colín V-33' (tipo B), 'Fuerte' (tipo B) y 'Colín V-33' (tipo B) con polen de 'Hass' (tipo A). La colecta del polen se hizo el mismo día o el día anterior a la polinización, para lo cual se utilizaron cajas de PVC con una esponja húmeda, donde se colocaron las flores colectadas en estado masculino antes y/o durante la liberación del polen y se transportaron en una hielera para evitar la deshidratación. Una vez iniciada la apertura floral en los diferentes estados de floración en cada una de las ramas embolsadas, éstas se descubrieron paulatinamente. Enseguida se marcaron al azar diez flores por rama (40 flores x árbol), las cuales se emascularon con ayuda de una pinza de disección y se polinizaron poniendo en contacto la antera de una flor con el estigma de la otra flor. La rama se cubrió nuevamente con mucho cuidado para evitar la caída de las flores polinizadas y su contaminación con polen extraño.

Cuarenta y ocho horas después de la polinización se recolectaron 10 flores por árbol (40 por cultivar), las cuales se depositaron sobre una caja petri y de inmediato se procedió a extraer los pistilos con ayuda de unas pinzas de disección, en un lugar sombreado ubicado dentro del mismo huerto. Los pistilos se fijaron en una solución de etanol 96 %: ácido acético glacial 100 % (2:1 v/v) y ahí permanecieron hasta el momento previo a su observación al microscopio (2 a 6 meses) para determinar la ubicación del tubo polínico.

Cinco a seis semanas después de la polinización se determinó el amarre inicial de fruto en las flores restantes.

3.4.4. Efecto del tipo de polinización sobre el desarrollo del tubo polínico y amarre inicial de fruto

La polinización manual se llevó a cabo en la apertura femenina de flores de 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' con polen propio y de 'Rincoatl', para lo cual se cubrieron previamente los árboles de la misma forma que se hizo para la evaluación de receptividad del pistilo. Se polinizaron 160 flores (40 x 4 árboles) por tratamiento (polinización cruzada y autopolinización) en cada cultivar. Para realizar las polinizaciones se consideró que las flores estuviesen iniciando su apertura floral en estado femenino y presentaran los estigmas turgentes y receptivos (estigmas blancos y húmedos). Una vez transcurridas 48 horas de la polinización se recolectaron 10 flores por árbol (40 x cultivar) de cada

tratamiento y se fijaron en etanol 96 %: ácido acético glacial 100 % (2:1 v/v) para la determinación de la ubicación del tubo polínico. El amarre inicial de fruto se determinó cinco semanas después (febrero a marzo) a partir de las flores polinizadas que no se recolectaron (30 flores x árbol).

3.4.5. Polinización abiótica espontánea

Se estudió la ocurrencia de la polinización abiótica (sugerida por Davenport, 1986). Para ello se utilizaron cuatro árboles por cultivar, en cada árbol se marcaron cuatro ramas en floración (de aproximadamente 1 m de longitud), por cada lado del árbol y se cubrieron con una tela ("tul") con orificios de aproximadamente 2 mm cuando se observaron las inflorescencias en el estado 5 (alargamiento de los pedúnculos) ó 6 (alargamiento de pedúnculos y primer alargamiento observable de pedicelos primarios) de Davenport (1986).

Se recolectaron 160 flores femeninas y 160 flores masculinas (40 por árbol = 10 por rama cubierta) y se fijaron en etanol 96 %: ácido acético glacial 100 % (2:1 v/v), posteriormente se determinó la tasa de polinización. Cada mes se registró el número de frutitos por inflorescencia (5 inflorescencias por árbol) y por única vez se recolectaron 10 frutitos cuajados por árbol (40 por cultivar), los cuales se fijaron en FAA (50 % de etanol al 96 % + 5 % de ácido acético glacial al 100 % + 10 % de formaldehído al 37 % + 35 % de agua), donde permanecieron durante un mes. Después, los frutos se lavaron y dejaron en agua corriente durante cuatro horas, luego se colocaron en etanol al 50 % y

70% (4 horas en cada concentración) y enseguida se fijaron en GAA (25 % de glicerol + 50 % de etanol al 100 % + 25 % de agua), donde se conservaron para continuar el procesamiento y realizar el estudio anatómico.

3.4.6. Estudio anatómico de frutos

Las muestras fijadas (10 frutitos cada una) se envolvieron con papel suave (lens paper), se engraparon de ambos extremos y se colocaron al interior de unas canastillas metálicas para continuar su procesamiento.

3.4.6.1. Deshidratación, transparentación e inclusión en parafina

La deshidratación, transparentación e inclusión de los frutitos en parafina se hizo en un procesador automático de tejidos (Histokinette). Para la deshidratación se usó etanol al 50 %, 70 %, 96 % (dos veces) y 100 % (dos veces); en la transparentación se utilizó etanol 100 %: xileno 100 % (1:1) y xileno 100 % (tres veces). El Histokinette fue programado para cambiar las muestras de una solución a otra cada 5 horas. Luego se incluyó en parafina de 56 a 58° C de punto de fusión, permaneciendo en cada una de ellas durante 24 horas.

3.4.6.2. Corte y montaje

Se cortaron pequeños bloques de parafina que contenían un fruto, luego éstos se montaron sobre bases de madera rectangular pulida para realizar los cortes

anatómicos de 10 µm de grosor en un microtomo rotatorio. Antes de realizar los cortes fue indispensable emparejar la muestra eliminando el exceso de parafina con una navaja para obtener una cinta de cortes recta y uniforme.

Una vez obtenida la cinta en serie, se eligieron los cortes de interés y se montaron sobre portaobjetos (4 a 5 tiras uniformes) con adhesivo Haupt (1 % gelatina + 13 % glicerol + 2 % fenol en agua) y unas gotas de formaldehído al 10% (Johansen, 1940). De inmediato se colocó la preparación sobre una platina a 55° C y con la ayuda de unas agujas de disección se procedió a extender los tejidos. Enseguida se eliminó el exceso de formaldehído y se dejó escurrir durante 12 horas, después se colocaron en la estufa a 55° C por un período de 12 horas para lograr una buena adhesión del tejido al portaobjetos (Avitia, 1996).

3.4.6.3. Tinción con safranina y verde fijo

Para el desparafinado de los cortes de frutos, las preparaciones se sumergieron tres veces consecutivas en xileno 100 % durante tres minutos cada una y luego se hidrataron parcialmente con etanol (100, 96, 70 y 50 %) por un período de tres minutos en cada concentración. Enseguida los cortes se colocaron en safranina 0.05 % (en cloruro de sodio no yodatado al 2 %) por 30 segundos. Posteriormente, los cortes se lavaron en agua corriente (5 seg) y se deshidrataron pasándolos por etanol al 50, 70, 96 y 100 % durante tres

minutos cada uno. Los tejidos se tiñeron con verde fijo al 0.12 % ("fast green" en etanol 96 %) durante un minuto; se lavaron en etanol al 100 % (3 min) y se colocaron tres veces en xileno al 100 % (3 min). Finalmente, las preparaciones se montaron en bálsamo de Canadá de manera permanente, para luego realizar las observaciones microscópicas necesarias.

3.4.7. Preparación de pistilos para su observación al microscopio

3.4.7.1. Ablandamiento de pistilos con NaOH. Los pistilos provenientes de la solución fijadora se colocaron en una solución de NaOH 8 N (Baker) por un período de 18 h, esto permitió ablandar y transparentar el tejido.

3.4.7.2. Enjuague. Para lograr la completa transparentación del tejido, fue necesario remover todos los restos de NaOH. Para ello se vació el contenido de cada frasco y se hicieron 20 enjuagues sucesivos con agua destilada o corriente, agitando varias veces y eliminando completamente el líquido en cada enjuague.

3.4.7.3. Tinción. Una vez ablandados, transparentados y enjuagados los pistilos, se realizó la tinción de los mismos utilizando dos soluciones:

- a. **Lacmoide 0.25 % disuelto en etanol al 30 %.** En este caso, cada uno de los pistilos se dividió en cuatro partes (estigma, parte superior del estilo, parte basal del estilo y ovario), las cuales se colocaron sobre portaobjetos

donde se les aplicaron dos gotas de la solución de tinción, dejando teñir durante un minuto. Posteriormente, se cubrió la preparación con un cubreobjetos, deslizándolo lentamente para evitar la formación de burbujas y ruptura del tejido. Después de cubrir los pistilos, se realizó un ligero aplastado en cada una de las partes (especialmente el ovario), ejerciendo una presión suave sobre el cubreobjetos con el borrador de un lápiz. Esto permitió deslizar el óvulo fuera del ovario para facilitar la observación de la penetración del tubo polínico al interior del óvulo y del saco embrionario. Finalmente, los pistilos se observaron en un microscopio óptico Leica Galen III utilizando los aumentos 10X y 40X.

- b. **Azul de anilina (0.2 %) disuelta en una solución de K_3PO_4 0.1 N.** Los pistilos aclarados se colocaron sobre portaobjetos (5 pistilos enteros en cada uno) y se tiñeron con dos gotas de la solución de tinción durante dos minutos. Posteriormente, de manera similar como se hizo en la tinción con lacmoide, se cubrieron y aplastaron los pistilos. Enseguida las muestras se observaron en un microscopio de fluorescencia Axiophot marca Carl Zeiss con lámpara de mercurio, con filtro III 0.5 ($\lambda = 395 - 440$), FT 460, LP 470.

En todos los casos se contabilizó el número total de granos de polen por estigma, número total de granos germinados, número de tubos polínicos que desarrollaron hasta la parte superior y basal del estilo y el número de tubos polínicos que penetraron el ovario, óvulo y saco embrionario.

Del total de pistilos colectados, el 75 % se tiñeron con la solución de lacmoide y el 25 % restante con la solución de azul de anilina; debido a que con la primera tinción no fue posible observar la penetración del tubo polínico a través del ovario ni al interior del óvulo.

3.4.8. Viabilidad del polen

El polen de aguacatero no germina consistentemente sobre un medio artificial; por lo cual su viabilidad se determinó por tinción con una solución de 2,5-diphenyl-3 (α -naphthyl) tetrazolium 0.1 % + sacarosa 60 %.

De cuatro árboles por cultivar desde el inicio de la floración se tomaron 6 flores por árbol, de cada flor se tomó un estambre y se sacudió la antera sobre un portaobjetos para liberar el polen. Las flores se recolectaron en estado masculino, antes de la liberación de polen y se colocaron en cajas petri con agar en una hielera para transportarlas al laboratorio. Posteriormente se procedió a teñir el polen con el colorante, se cubrió con un cubreobjetos y se dejó reposar en una estufa a 45° C durante 12 horas. Una vez teñidos los granos de polen se observaron al microscopio óptico con un objetivo de 25X y/o 40X y se contabilizó el número de granos de polen viables (teñidos de rojo) por campo.

3.4.9. Granos de polen por antera

Para realizar los conteos de granos de polen por antera se utilizaron plantas clonadas en floración de los cultivares Hass (tipo A) y Colín V-33 (tipo B). En el caso del 'Fuerte' (tipo B) se utilizaron flores provenientes de árboles de 12 años de edad, las cuales se fijaron en una solución de alcohol 96 % + ácido acético glacial 100% (2:1 v/v). Durante el experimento las plantas de 'Hass' y 'Colín V-33' se trasladaron al laboratorio donde se manejaron con luz artificial (lámpara incandescente) para inducir las aperturas florales.

En cuanto se iniciaron las aperturas florales en estado masculino antes de la liberación del polen (sin apertura de valvas), se eligieron 10 flores al azar de cada cultivar y se tomó también al azar una antera por flor. La antera se colocó sobre un portaobjetos cuadrículado y con la ayuda de dos agujas de disección teniendo mucho cuidado se abrieron las valvas para inducir la liberación de polen. Luego se procedió a teñir los granos de polen aplicando con un capilar dos gotas de safranina 0.005 %, la cual se dejó actuar por 20 a 30 seg para lograr la tinción adecuada de los mismos. Inmediatamente la muestra se cubrió con un cubreobjetos teniendo cuidado de no aplastar los granos de polen, puesto que esto hubiese incrementado el porcentaje de ruptura. Finalmente se realizó el conteo en un microscopio óptico.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Receptividad del pistilo en 'Hass' durante el período de floración de invierno de 1998

Durante el período de floración de invierno de 1998 (enero a marzo), los estigmas de las flores de 'Hass' fueron receptivos tanto en el estado femenino como en el estado masculino antes de liberado el polen. No existieron diferencias significativas en el número de granos de polen por estigma, porcentaje de granos germinados y desarrollo de tubos polínicos a través del estilo y en el ovario, entre los estados femenino y masculino antes de liberado el polen (Anexo 1). Tampoco se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de flores con tubo polínico en el ovario entre ambos estados de apertura floral (Anexo 2).

La cantidad de granos de polen por estigma en las flores en estado femenino (10.58) y masculino antes de la liberación del polen fue baja (5.53). No obstante, los porcentajes de germinación de los granos de polen fueron altos (100 y 98.68 % para las flores en estado femenino y masculino antes de liberado el polen, respectivamente). En los pistilos de las flores femeninas hubo mayor porcentaje de tubos polínicos que desarrollaron hasta la base del estilo

(5.97 %) en comparación con los pistilos de las flores en estado masculino antes de liberado el polen (0.89 %), aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas, lo cual coincide con Sedgley (1977a), quien encontró que cuando se polinizaron manualmente flores en estado femenino y masculino se presentaron menos tubos polínicos sobre los pistilos de flores masculinas. Un tubo penetró al ovario en sólo un pistilo de los 110 polinizados en estado masculino, en comparación con todos los pistilos observados en estado femenino. En este experimento no hubo penetración de tubo polínico en el ovario de ninguno de los pistilos en estado masculino antes de liberado el polen. Únicamente, esto se produjo en el 30 % de los pistilos de las flores en estado femenino, observándose un promedio de 3.19 % de tubos polínicos en el ovario. En el 2.5 % de los pistilos de las flores en estado masculino antes de liberado el polen, el tubo polínico desarrollo sólo hasta la parte basal del estilo; es decir, los tubos polínicos no alcanzaron el ovario (Cuadros 1 y 2), de manera similar a lo encontrado por Sedgley (1977a), quien observó que en las flores de aguacatero en estado masculino hubo autopolinización pero los tubos polínicos no alcanzaron el ovario.

Cuadro 1. Desarrollo del tubo polínico en dos estados de apertura floral del aguacatero 'Hass' (1998).

Estado	TGP	PGG	PE1	PE2	POV
Femenino	10.58 a ^z	100.00 a	23.89 a	5.97 a	3.19 a
Masculino ALP ^y	5.53 a	98.68 a	5.67 a	0.89 a	0.00 a
DMS ^x	5.51	1.99	19.99	7.39	4.54

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de T ($P \leq 0.05$).

^y Antes de liberado el polen.

^x Diferencia mínima significativa.

TGP = granos de polen por estigma, PGG = porcentaje de granos de polen germinados, PE1 = porcentaje de tubos polínicos en la parte superior del estilo, PE2 = porcentaje de tubos polínicos en la parte basal del estilo y POV = porcentaje de tubos polínicos en el ovario.

Cuadro 2. Porcentaje de flores del aguacatero 'Hass' con desarrollo de tubo polínico en dos estados de apertura floral (1998).

Estado	Porcentaje de flores con tubo polínico en:			
	Estigma	E1	E2	OVA
Femenino	100.00 a ^z	78.75 a	50.00 a	30.00 a
Masculino ALP ^y	85.00 a	26.25 b	2.50 a	0.00 a
DMS ^x	21.19	41.11	58.57	42.38

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de T ($P \leq 0.05$).

^y Antes de liberado el polen.

^x Diferencia mínima significativa.

E1 = parte superior del estilo, E2 = parte basal de estilo y OVA = ovario.

4.2. Receptividad del pistilo en diferentes estados de apertura floral de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante el período de floración de invierno de 1999

Los análisis de varianza indican que existieron diferencias altamente significativas en número de granos de polen por estigma entre los estados de apertura floral de cada uno de los cultivares. En cuanto al porcentaje de germinación de los granos de polen, únicamente se encontraron diferencias significativas entre los estados de apertura floral del cultivar Fuerte. El porcentaje de desarrollo de tubos polínicos hasta la parte superior del estilo fue similar en los diferentes estados de apertura floral de cada cultivar. Sin embargo, se encontraron diferencias altamente significativas en el porcentaje de desarrollo de tubos polínicos a través de la parte basal del estilo y ovario entre los estados de apertura floral en los cultivares Hass y Colín V-33; en 'Fuerte', estas diferencias fueron significativas (Anexos 3 - 8).

En cuanto al porcentaje de flores con tubo polínico en el estigma, parte superior del estilo y parte basal del estilo, se encontraron diferencias altamente significativas entre los estados femenino, masculino antes de liberado el polen y masculino después de liberado el polen de cada uno de los cultivares evaluados. Sólo se observaron diferencias significativas en el porcentaje de flores con tubo polínico en el ovario entre los estados de apertura floral del cultivar Hass, más no en 'Fuerte' ni en 'Colín V-33' (Anexos 9 - 11).

Los estigmas de las flores de 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' fueron receptivos en estado femenino, estado masculino antes de liberado el polen y estado masculino después de liberado el polen. Sin embargo, la receptividad de los estigmas disminuyó a medida que las flores tenían más tiempo desde su primera apertura (estado femenino). Así, los pistilos de las flores de 'Hass' y 'Fuerte' se mostraron más receptivos en estado femenino y masculino antes de liberado el polen que en el estado masculino después de liberado el polen. En estos cultivares la carga polínica de las flores en estado femenino (27.3 y 24.2, respectivamente) y masculino antes de liberado el polen (21.5 y 15.4, respectivamente) fue buena y superior a la observada en los estigmas de las flores en estado masculino después de liberado el polen (8.6 y 5.4, respectivamente) (Cuadro 3), considerando que en estudios previos se ha encontrado que para lograr un alto porcentaje de fecundación se requieren 20 ó más granos de polen por estigma (Shoval, 1987).

Respecto al cultivar Colín V-33 a pesar de que no presentó diferencias significativas en el número de granos de polen por estigma entre los estados de apertura floral, el mayor número de granos de polen se observó sobre los estigmas de las flores en estado femenino (32.4 granos) y el menor número en los estigmas de las flores en estado masculino antes de liberado el polen (8.2) (Cuadro 3). En este cultivar la cantidad de granos de polen por estigma en las flores en estado masculino después de liberado el polen fue ligeramente mayor a la observada en las flores masculinas sin liberación de polen, esto debido a que al producirse la liberación del polen previo a la polinización manual,

posiblemente ya habían caído algunos granos de polen desde las anteras de la misma flor o desde las anteras de flores cercanas sobre algunos de los estigmas que se polinizaron, considerando que no se cubrieron flores individuales sino ramas con muchas inflorescencias.

En los tres estados de apertura floral de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' los granos de polen germinaron bien. Así, en las flores de 'Hass' en estado femenino, masculino antes y después de liberado el polen se tuvieron porcentajes de germinación de 98.7, 97.9 y 94.4 %, respectivamente. En 'Fuerte' el porcentaje de germinación en estado femenino fue de 97.2 %, en estado masculino antes de liberado el polen germinó el 94.7 % de los granos de polen y en el estado masculino después de liberado el polen se tuvo un porcentaje de germinación de 88 %. En los tres estados de apertura floral de 'Colín V-33' el porcentaje de germinación de granos de polen fue superior a 97% (Cuadro 3). Este comportamiento coincide con lo encontrado por Gazit *et al.* (1995) y Gazit (1999) quienes al estudiar en Israel la polinización manual de las flores de aguacatero en estado masculino en los principales cultivares comerciales ('Fuerte', 'Ettinger', 'Hass', 'Reed' y 'Nabal'), con algunos cultivares Antillanos y sus híbridos ('Simmonds', 'Maoz', y 'Ein Harod') y con un cultivar muy productivo ('Gwen') encontraron que generalmente el polen germinó bien cuando se aplicó en el estado masculino; sin embargo, casi siempre, los tubos polínicos no alcanzaron más allá de la parte superior del estilo. Únicamente en 'Ettinger' y 'Ein Harod' los tubos polínicos alcanzaron el ovario (pero no la nucela).

Cuadro 3. Desarrollo del tubo polínico en diferentes estados de apertura floral de tres cultivares de aguacatero (1999).

Cultivar	Estado	TGP	PGG	PE1	PE2	POV ^y
Hass	Femenino	27.3 a ^z	98.7 a	13.9 a	2.8 a	3.9 a
	Masculino ALP ^x	21.5 a	97.9 a	13.5 a	0.2 b	0.6 b
	Masculino DLP ^w	8.6 b	94.4 a	10.5 a	0.0 b	0.0 b
	DMS ^v	12.2	7.2	8.7	2.0	1.9
Fuerte	Femenino	24.2 a	97.2 a	14.3 a	5.1 a	4.1 a
	Masculino ALP	15.4 ab	94.7 a	11.6 ab	0.7 b	0.2 ab
	Masculino DLP	5.4 b	88.0 a	5.0 b	0.0 b	0.0 b
	DMS	12.7	13.1	8.7	2.3	3.9
Colín V-33	Femenino	32.4 a	96.6 a	15.4 a	3.9 a	0.8 a
	Masculino ALP	8.2 a	99.2 a	16.9 a	0.0 b	0.0 b
	Masculino DLP	13.2 a	97.7 a	22.2 a	0.2 b	0.0 b
	DMS	26.1	4.2	15.0	1.3	0.7

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

^y Observaciones realizadas en fluorescencia.

^x Antes de liberado el polen.

^w Después de liberado el polen.

^v Diferencia mínima significativa.

TGP = granos de polen por estigma, PGG = porcentaje de granos de polen germinados, PE1 = porcentaje de tubos polínicos en la parte superior del estilo, PE2 = porcentaje de tubos polínicos en la parte basal del estilo y POV = porcentaje de tubos polínicos en el ovario.

En todos los cultivares evaluados el menor porcentaje de germinación de granos de polen correspondió a las flores en estado masculino después de liberado el polen (Cuadro 3), lo cual estuvo relacionado directamente con la mayor pérdida de receptividad del estigma de las flores en este estado. Al respecto, los resultados de diversos experimentos permiten atribuir gran importancia al estado higrométrico de la atmósfera como factor responsable del grado de receptividad del estigma. Cuando la humedad relativa está por debajo de cierto límite (50 %), comienza a producirse una disminución progresiva de los líquidos del estigma y la germinación de los granos de polen llega a ser problemática o incluso totalmente imposible (Cautín, 1996). Durante el período en que se llevó a cabo el experimento el promedio de la humedad relativa durante el día fue menor de 50 % (Anexos 12 y 13), lo cual influyó directamente en la pérdida de receptividad de los estigmas de las flores en estado masculino después de liberado el polen.

Los pistilos de las flores de 'Hass' y 'Fuerte' fueron más receptivos en estado femenino y en estado masculino antes de liberado el polen, puesto que se encontró mayor porcentaje de flores con tubo polínico en el estigma, parte superior del estilo, parte basal del estilo y en el ovario que en las flores en estado masculino después de liberado el polen. A pesar de que no existieron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de flores con tubo polínico en el ovario entre los estados femenino y masculino antes de liberado el polen en ambos cultivares, el total de flores femeninas de 'Hass' (30 %) y 'Fuerte' (25 %) que presentó tubo polínico en el ovario fue más alto al

encontrado en el estado masculino antes de liberado el polen, ya que en 'Hass' sólo el 5 % de las flores en estado masculino antes de liberado el polen presentó tubo polínico en el ovario y en 'Fuerte' este porcentaje fue aún más bajo (2.5 %). En los pistilos de las flores en estado masculino después de liberado el polen de 'Hass' y 'Fuerte' los tubos polínicos no desarrollaron más allá de la parte superior del estilo (Cuadro 4). Esto coincide en parte con Sedgley y Grant (1983), quienes al estudiar nueve cultivares de aguacatero encontraron que el crecimiento del tubo polínico en el pistilo fue muy variable, pero únicamente los cultivares cuyas flores abrieron en estado femenino presentaron tubos polínicos en el ovario y óvulo. Así, en todos los cultivares del tipo B excepto 'Bacon', el crecimiento del tubo polínico fue detenido en el estilo, mientras que en todos los cultivares del tipo A, y en el cultivar Bacon del tipo B, algunos de los óvulos fueron penetrados por un tubo polínico (Sedgley y Grant, 1983).

En el Cuadro 4 se muestra que en el cultivar Colín V-33 los pistilos de las flores en estado femenino fueron más receptivos que los pistilos de las flores en estado masculino antes y después de liberado el polen. En este cultivar únicamente el 5 % de las flores polinizadas en estado femenino presentó tubo polínico en el ovario. En los pistilos de las flores en estado masculino antes y después de liberado el polen, los tubos polínicos no desarrollaron más allá de la parte basal del estilo.

Cuadro 4. Porcentaje de flores con desarrollo de tubo polínico en diferentes estados de apertura floral de tres cultivares de aguacatero (1999).

Cultivar	Estado	Porcentaje de flores con tubo polínico en:			
		Estigma	E1	E2	OVA
Hass	Femenino	100.00 a ^z	100.00 a	67.50 a	30.00 a
	Masculino ALP ^y	100.00 a	62.50 ab	7.50 b	5.00 ab
	Masculino DLP ^x	81.50 b	35.00 b	0.00 b	0.00 b
	DMS ^w	9.92	43.53	22.32	27.13
Fuerte	Femenino	100.00 a	100.00 a	91.25 a	25.00 a
	Masculino ALP	100.00 a	82.50 a	20.00 b	2.50 a
	Masculino DLP	65.00 b	22.50 b	0.00 b	0.00 a
	DMS	19.74	36.94	30.99	38.23
Colín V-33	Femenino	100.00 a	90.00 a	82.50 a	5.00 a
	Masculino ALP	82.50 a	35.00 b	2.50 b	0.00 a
	Masculino DLP	78.75 a	52.50 ab	2.50 b	0.00 a
	DMS	30.11	46.42	28.11	6.58

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$.

^y Antes de liberado el polen.

^x Después de liberado el polen.

^w Diferencia mínima significativa.

E1 = parte superior del estilo, E2 = parte basal de estilo y OVA = ovario.

La reducción del desarrollo del tubo polínico en los pistilos de las flores en estado masculino antes y después de liberado el polen de todos los cultivares estuvo asociado a la presencia de deposiciones de calosa y engrosamiento de

los ápices de los tubos polínicos en la parte superior y basal del estilo (Figura 1 A, B). Además, en varios pistilos de las flores en estado masculino después de liberado el polen se observó acumulaciones de calosa junto a los haces vasculares del óvulo, lo cual podría indicar la pérdida de viabilidad del mismo; lo cual coincide con Sedgley (1976), quien observó que en 'Fuerte' los tubos polínicos penetraron el estigma pero aproximadamente la mitad hincharon sus ápices desarrollando no más allá de la base del estigma, es decir, la inhibición de éstos se dio por la presencia de tapones de calosa. También se ha mencionado que muchos de los tubos que detienen su crecimiento tienen hinchamiento de sus ápices, lo cual es un fenómeno comúnmente observado en el crecimiento de tubos polínicos *in vitro*, donde los sustratos disminuyen y los productos del metabolismo del polen se incrementan (Tupy, 1960; citado por Sedgley, 1976). Además, este mismo autor ha reportado que en el aguacatero es posible que la parte baja del estilo contenga suficiente sustrato disponible para un tubo y que en algunos casos donde se presenten dos sacos embrionarios se provea de sustrato extra para sostener el crecimiento de un segundo tubo polínico para fecundar otro óvulo. También Sedgley (1977a), encontró que en los pistilos de las flores en estado femenino no hubo presencia de calosa, pero ésta se presentó en el 46 % de los pistilos en estado floral masculino. Cuarenta y dos horas después de la primera apertura, la calosa se presentó en todos los pistilos observados, en asociación con la pared celular de las papilas estigmáticas, el tejido de transmisión, el tejido vascular de la corteza o epidermis o una combinación de estos tejidos.

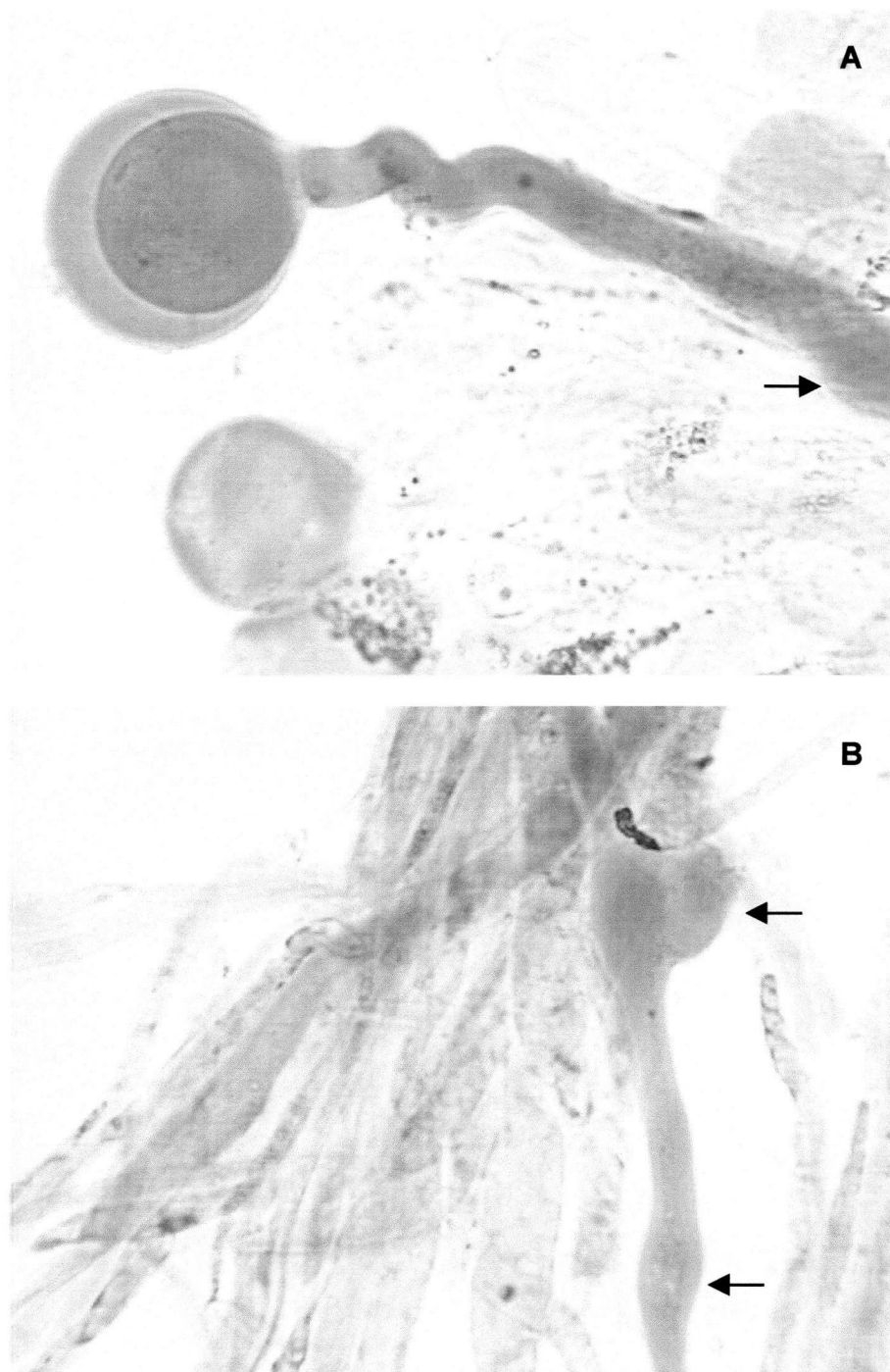


Figura 1. Acumulaciones de calosa en el tubo polínico a nivel del estilo de una flor en estado masculino de aguacatero. A. Parte superior del estilo, B. Parte basal del estilo.

La calosa se presentó más temprano en pistilos polinizados que en pistilos no polinizados, particularmente en el tejido de transmisión; sugiriendo que la reducción del crecimiento del tubo polínico en los pistilos del estado floral masculino del aguacatero está asociado con la presencia de calosa, tal como se pudo constatar en las observaciones realizadas en este experimento.

A pesar de que en el estado femenino de todos los cultivares evaluados y en el estado masculino antes de liberado el polen de 'Hass' y 'Fuerte' hubo penetración del tubo polínico en el ovario (porcentaje variable), en ninguno de los casos se pudo observar penetración del tubo polínico al interior del óvulo 48 horas después de la polinización (Cuadros 3 y 4), esto debido a que las bajas temperaturas que prevalecieron durante el periodo de experimentación donde el promedio de temperatura durante el día y la noche fue de 18.5° C y 9.9° C, respectivamente, disminuyeron la velocidad de desarrollo del tubo polínico a través del estilo, ocasionando que éste no llegara a fecundar el óvulo en este intervalo de tiempo (Anexo 13). Además, hubieron noches en las cuales la temperatura descendió hasta 0.7 o 2.3° C. Estos resultados concuerdan con varios autores, quienes señalan que el crecimiento del tubo polínico a través del estilo es altamente dependiente de las temperaturas y que en el aguacatero la temperatura ideal para el crecimiento del tubo polínico es de 25° C y se reduce severamente abajo de 20° C y arriba de 30° C (Sedgley, 1977b, 1986; Sedgley y Annells, 1981; Sedgley y Grant, 1983). También se sabe que las temperaturas bajas que prevalecen durante el período de floración disminuyen la viabilidad del óvulo e incrementan la duración del tiempo que se requiere

para que el tubo polínico crezca desde el estigma al óvulo. Así, la duración del período de polinización efectiva se acorta significativamente y se reduce el amarre de frutos (Lovatt, 1990).

La receptividad del pistilo en los diferentes estados de apertura floral varió con los cultivares. El período de receptividad del pistilo en el cultivar Hass (Tipo A) fue mayor que el de 'Fuerte' (Tipo B) y el de 'Colín V-33' (Tipo B), puesto que presentó mayor porcentaje de flores femeninas y masculinas sin liberación de polen con tubo polínico en el ovario. Aunque como se mencionó anteriormente, los pistilos de las flores femeninas de todos los cultivares fueron más receptivos que los pistilos de las flores en estado masculino antes de liberado el polen (Cuadro 4). La diferencia en el grado y período de receptividad del pistilo en los diferentes estados de apertura floral estuvo relacionada con el comportamiento floral de los cultivares y con las condiciones ambientales. El comportamiento del cultivar Hass no fue el típico, sino que fue muy variable. Este presentó el inicio de la apertura femenina por la mañana (9 a 10 a.m.) cuando las condiciones de temperatura fueron más favorables que en otros días (19 y 11.0° C durante el día y la noche anterior respectivamente) (Anexo 13). Cuando las temperaturas del día y de la noche anterior fueron más bajas y/o cuando amaneció nublado, las aperturas se retrasaron de 4 a 5 horas, de este modo 'Hass' inició la apertura femenina por la tarde (12:00 a 13:00 p.m.). Al igual que en investigaciones anteriores se pudo observar que bajo condiciones de temperaturas bajas la fertilidad del cultivar Hass (Tipo A) se conservó mejor que la de 'Fuerte' y la de 'Colín V- 33' (Tipo B), tal como lo observaron Sedgley y

Grant (1983) en otros cultivares. En este cultivar generalmente se observaron traslajos de estados florales, ya fuera por la mañana o por la tarde, dependiendo de las condiciones climáticas. En algunos días se tuvieron aperturas femeninas por la mañana y en otros días por la mañana y por la tarde del mismo día.

En el cultivar Fuerte, las bajas temperaturas y los días nublados también alteraron su comportamiento floral. En algunos de estos días no se presentó la apertura femenina o bien se retrasó por más de cuatro horas, iniciándose muy tarde, y al parecer las flores cerraron antes de abrirse completamente y reabrieron como femeninas al día siguiente, aproximadamente a partir de las 9:00 de la mañana. El traslajo de las flores en estado femenino y masculino con liberación de polen fue menos frecuente que en 'Hass' y generalmente ocurrió al mediodía permaneciendo aproximadamente una hora.

El menor período de receptividad del pistilo de las flores de 'Colín V-33' estuvo determinado por su comportamiento floral, ya que en este cultivar la primera apertura (estado femenino) durante la mayor parte del período de evaluación se dio a partir de las 5 ó 6 de la tarde, cuando la temperatura comenzaba a descender y por ende, el desarrollo del tubo polínico debió presentarse durante el transcurso de la noche con temperaturas menores a 12° C. En algunos días cuando las temperaturas del día y de la noche anterior fueron muy bajas y en días nublados, la apertura femenina no se produjo o se produjo durante la tarde o al día siguiente, muy temprano a partir de las 7 de la mañana, permaneciendo

abiertas hasta las 9 ó 10 de la mañana, probablemente en estos días se presentaron mejores condiciones para el desarrollo del tubo polínico. Esto coincide en parte con lo encontrado por Cautín (1996), quien señaló que en días nublados la apertura de las flores en estado femenino se retrasa más de tres horas. En los cultivares del tipo B, esto significa que el crecimiento del tubo polínico ocurre durante el atardecer, cuando las temperaturas descendentes pueden ser demasiado bajas para un suficiente crecimiento. En muy pocas ocasiones se observó traslapo del estado femenino y masculino con liberación de polen y generalmente, esto se produjo en la mañana al momento que se iniciaba la liberación del polen en las primeras flores masculinas, lo cual no duró más de media hora.

En todos los cultivares el promedio del período de tiempo en que se pudieron realizar las polinizaciones en estado masculino antes de liberado el polen con alta proporción de estigmas blancos fue de 1.5 a 2.0 horas. En estado masculino después de liberado el polen de 'Hass' durante 2.5 horas, y en 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante 3 y 4 horas, respectivamente. En estos últimos cultivares a pesar de que el período de polinización diaria en este estado fue mayor, la proporción de estigmas blancos fue menor que el de 'Hass' sobre todo en el caso de 'Fuerte', en el cual se observó mayor proporción de estigmas marrones incluso desde el estado masculino antes de liberado el polen. Los pistilos de este cultivar, se mostraron más susceptibles a la desecación durante los días soleados. Al respecto, Davenport *et al.* (1994) señalaron que las grandes diferencias en la proporción diaria de estigmas blancos son

probablemente debidas a diferencias en la desecación potencial del microambiente floral; lo cual es probablemente influenciado por una combinación de factores, incluyendo presión de vapor y radiación solar impactando directamente sobre las flores.

4. 3. Amarre inicial de fruto proveniente de flores autopolinizadas en dos estados de apertura floral de 'Hass' durante el período de floración de invierno de 1998

Al realizar el análisis de varianza no se encontraron diferencias significativas en amarre inicial de fruto entre las flores autopolinizadas en estado femenino y en estado masculino antes de liberado el polen (Anexo 14).

En la Figura 2 se aprecia que en el estado femenino se obtuvo un 14.17 % de amarre inicial de frutos y en el estado masculino antes de liberado el polen se logró un porcentaje de amarre inicial de fruto similar (10 %). Esto coincide parcialmente con Papademetriou (1975a), quien encontró que en Trinidad la polinización en el estado masculino puede resultar en amarre de fruto.

4. 4. Amarre de fruto en diferentes estados de apertura floral de 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante el período de floración de invierno de 1999

Los análisis de varianza muestran que existieron diferencias significativas en el amarre de fruto en dos meses consecutivos de evaluación, entre los estados de apertura floral de cada uno de los cultivares evaluados (Anexos 15 - 17).

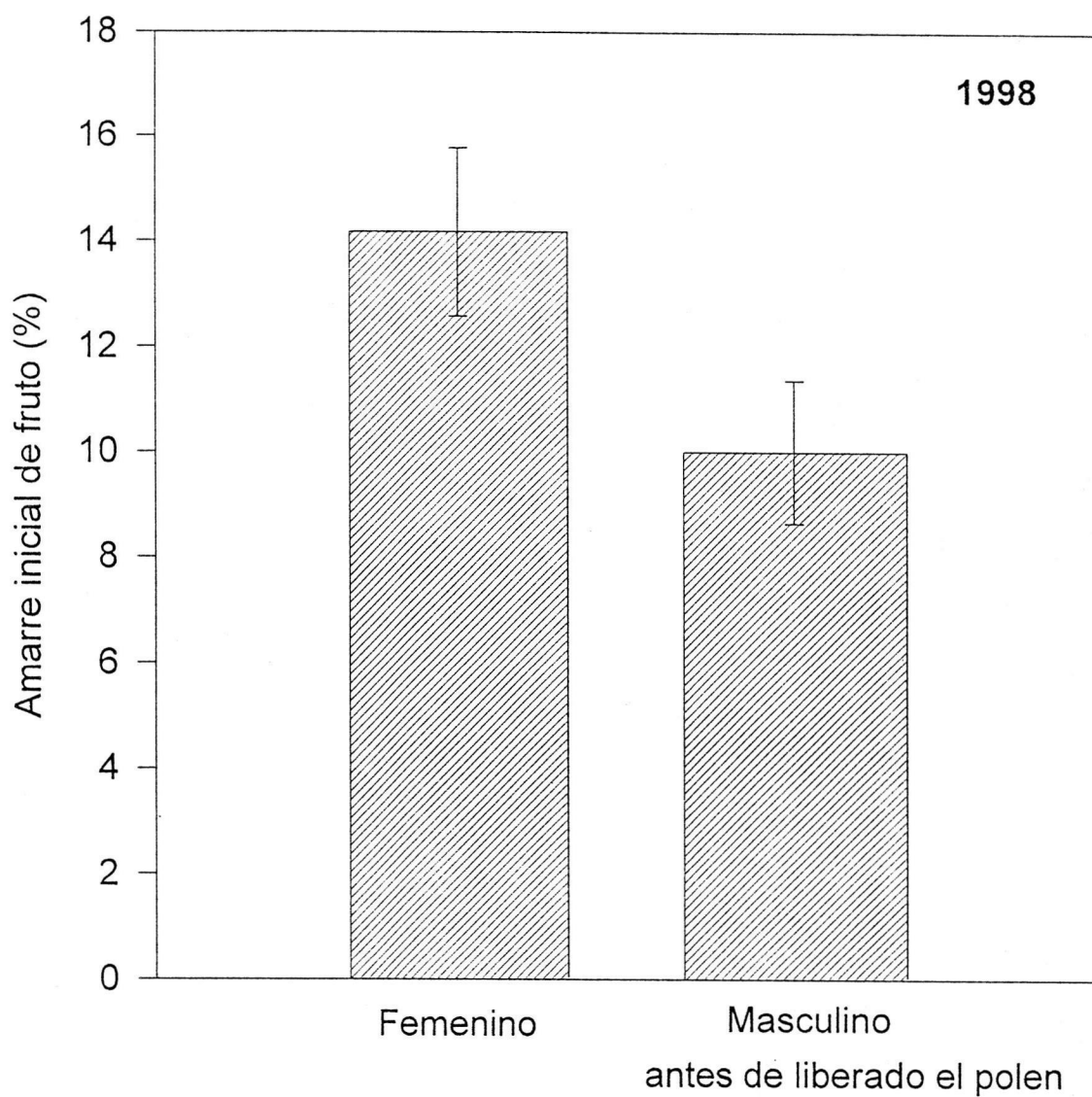


Figura 2. Amarre inicial de fruto en dos estados de apertura floral del aguacatero 'Hass'. La barra indica el porcentaje de 160 flores polinizadas $\pm$ error estándar.

En el cultivar Hass los porcentajes más altos de amarre inicial de fruto se obtuvieron a partir de flores con polinización cruzada en estado femenino (44.44 %) y masculino antes de liberado el polen (32.32 %) (Figura 3). Estos resultados confirmaron la posibilidad de lograr amarre inicial de fruto en el estado masculino antes de liberado el polen, pero los porcentajes de amarre inicial obtenidos en el segundo año fueron mayores que en el primer año; la diferencia probablemente radica en que no se utilizó la misma fuente de polen en ambos años. Al segundo mes de evaluación sólo sobrevivieron el 11.11 % de los frutos provenientes de las flores polinizadas en estado femenino. No sobrevivió ningún fruto proveniente de flores polinizadas en estado masculino antes de liberado el polen.

En el cultivar Fuerte únicamente se logró amarre de frutos al polinizar flores en estado femenino; el porcentaje promedio de amarre inicial fue de 27.27 %, al segundo mes de evaluación sobrevivieron el 7.78 % de los frutos (Figura 3).

Finalmente, en 'Colín V-33' el mayor porcentaje de amarre inicial de frutos se obtuvo al polinizar flores en estado femenino (15.56 %) y el porcentaje más bajo al polinizar flores en estado masculino antes de liberado el polen (2.22 %). En el estado masculino después de liberado el polen no hubo amarre inicial de frutos. Al segundo mes de evaluación (8 semanas después de la polinización cruzada) sobrevivieron únicamente el 2.22 % de los frutos provenientes de flores polinizadas en estado femenino, ya que se había producido la abscisión de todos los frutos provenientes de las flores polinizadas en estado masculino

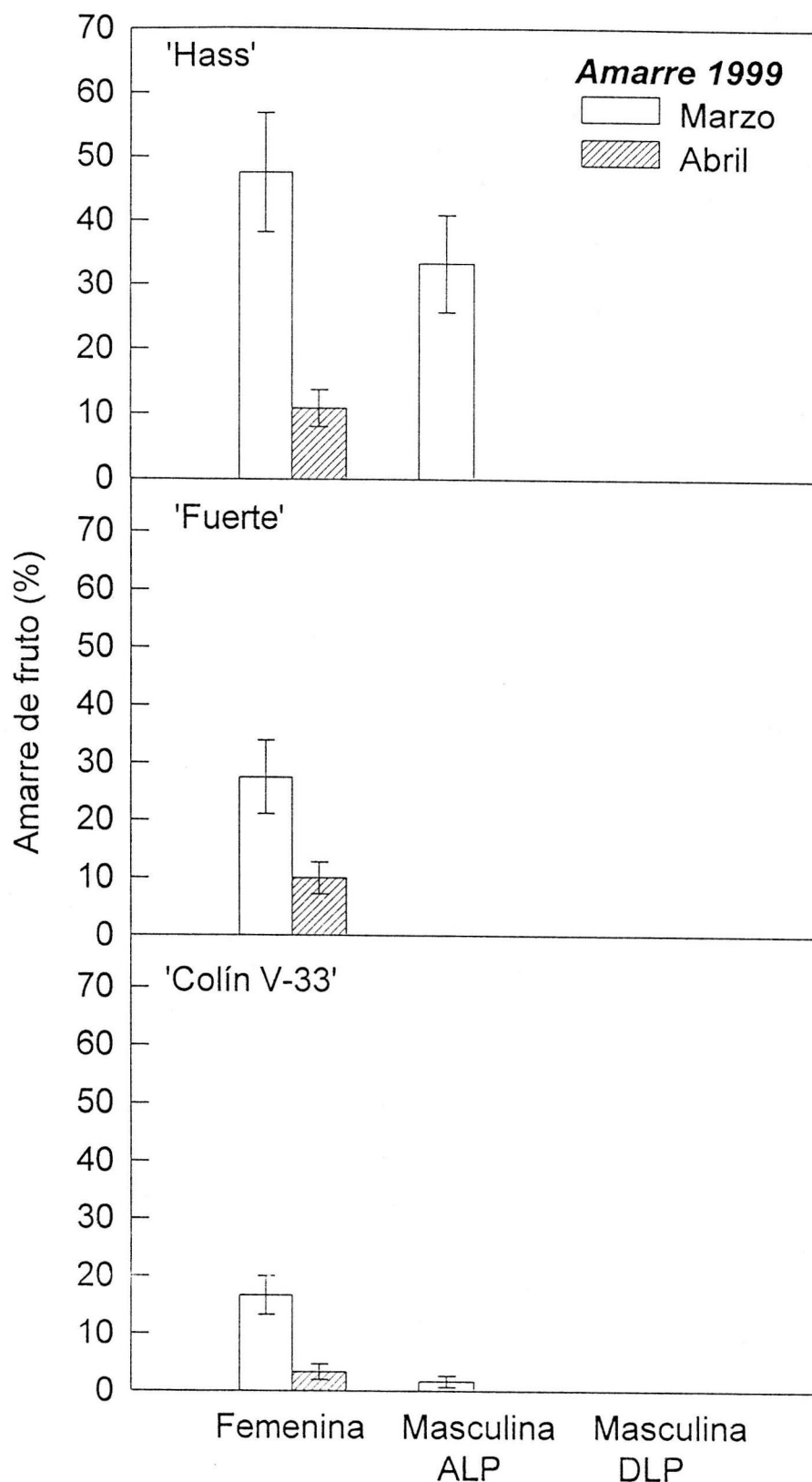


Figura 3. Amarre de fruto en tres estados de apertura floral de tres cultivares de aguacatero. La barra indica el porcentaje de 160 flores polinizadas (cruza) $\pm$ error estándar.

antes de liberado el polen (Figura 3). Al respecto, Sedgley (1977a) mencionó que cuando se polinizaron manualmente flores en estado femenino y masculino, las flores polinizadas en el estado femenino se mantuvieron por más tiempo sobre la planta que las flores polinizadas en estado masculino. Además, como se mencionó anteriormente, en las evaluaciones microscópicas realizadas no se observó penetración de tubo polínico en el óvulo (48 horas después de la polinización) de los pistilos de las flores en estado masculino de 'Hass' y 'Colín V-33', por lo cual es posible que la abscisión de todos los frutos provenientes de flores polinizadas en este estado durante el segundo año de evaluación se haya presentado por la falta de fecundación; lo cual está relacionado con los resultados obtenidos por Gazit *et al.* (1995) quienes al estudiar en Israel la polinización manual de flores de aguacatero en estado masculino en los principales cultivares comerciales, encontraron que tres semanas después de la polinización manual en flores en estado masculino de 'Ettinger', 'Reed' y 'Gwen' no se encontraron frutitos normales. Mostrando concluyentemente que en Israel la polinización en el estado masculino no es efectiva.

4.5. Efecto del tipo de polinización sobre el desarrollo del tubo polínico y amarre inicial de fruto

4.5.1. Desarrollo del tubo polínico en flores en estado femenino de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada durante el período de floración de invierno de 1999

Los análisis de varianza indican que existieron diferencias significativas en el número de granos de polen por estigma entre los pistilos de autopolinización y polinización cruzada de 'Hass' y 'Fuerte' más no entre los del cultivar Colín V-33. El porcentaje de germinación de granos de polen y el porcentaje de desarrollo de tubos polínicos a través del estilo y ovario fueron similares con ambos tipos de polinización en cada uno de los cultivares evaluados (Anexos 18 - 23).

En el Cuadro 5 se aprecia que la carga polínica de los pistilos de autopolinización así como los de polinización cruzada de todos los cultivares evaluados fue buena (12 a 42 granos de polen por estigma). Aunque en 'Hass' y en 'Fuerte' la carga polínica de los pistilos de polinización cruzada fue superior a la de los pistilos de autopolinización. Sin embargo, los porcentajes de germinación de granos de polen en todos los casos fueron altos (superiores a 92 %) (Figura 4), pero como se indicó anteriormente no existieron diferencias estadísticas significativas. Tanto en los pistilos de autopolinización como en los

Cuadro 5. Desarrollo del tubo polínico en pistilos de flores en estado femenino de tres cultivares de aguacatero bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada durante el período de floración de invierno de 1999.

Cultivar	Tipo de Polinización	NG (No.)	PGG (%)	PE1 (%)	PE2 (%)	POV ^x (%)
Hass	Autopolinización	11.95 b	91.76 a	21.69 a	2.41 a	1.86 a ^z
	Polinización cruzada	27.80 a	93.81 a	10.51 a	3.37 a	3.89 a
	DMS ^y	12.64	13.74	23.04	4.35	2.85
Fuerte	Autopolinización	22.90 b	96.01 a	11.61 a	4.30 a	3.18 a ^z
	Polinización cruzada	41.90 a	98.83 a	6.24 a	2.54 a	2.87 a
	DMS ^y	18.81	4.31	8.21	3.14	3.04
Colín V-33	Autopolinización	29.70 a	94.19 a	22.45 a	3.89 a	0.36 a ^z
	Polinización cruzada	38.03 a	95.90 a	16.92 a	3.81 a	0.80 a
	DMS ^y	31.48	3.30	9.29	4.65	0.88

^x Observaciones realizadas con lacmoide.

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de T ($P \leq 0.05$).

^y Diferencia mínima significativa.

NG = granos de polen por estigma, PGG = porcentaje de granos germinados, PE1 = porcentaje de tubos polínicos en la parte superior del estilo y PE2 = porcentaje de tubos polínicos en la parte basal del estilo POV = porcentaje de tubos polínicos en el ovario.

de polinización cruzada de 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33', el porcentaje de desarrollo de tubos polínicos disminuyó considerablemente a partir de la parte superior del estilo, por lo cual sólo un porcentaje muy bajo de tubos polínicos logró alcanzar la parte basal del estilo y el ovario; lo cual estuvo asociado con la presencia de tapones de calosa a este nivel, los mismos que impidieron el desarrollo continuo de un alto porcentaje de tubos polínicos hacia la parte basal del estilo de manera similar a lo observado por Tomer y Gottreich (1975). Por lo general sólo un tubo polínico logró penetrar el ovario (Figura 5), lo cual coincide con Sedgley (1976). No obstante, en ninguno de los pistilos de autopolinización así como en los de polinización cruzada que fueron teñidos con lacmoide se pudo observar la penetración al óvulo a través del micrópilo (Cuadro 5), esto fue posible sólo en algunos de los pistilos que se observaron mediante la técnica de fluorescencia (Figura 6), lo cual coincide en parte con Tomer y Gottreich (1975), quienes encontraron en flores femeninas polinizadas del cultivar Fuerte que la penetración al óvulo por un tubo polínico se observó en el 24 % de los casos evaluados 48 horas después de la polinización. También, pudieron distinguir diferentes estados de penetración; por ejemplo, penetración del tegumento, de las nucelas y del saco embrionario. Es posible que las bajas temperaturas que se presentaron durante el período de polinización y desarrollo del tubo polínico no hayan permitido que en la mayoría de los pistilos analizados el tubo polínico logrará penetrar al óvulo 48 horas después de la polinización por un probable desarrollo lento del mismo. Además de que al realizar la tinción de los pistilos con lacmoide no fue posible tener una buena visibilidad al interior del óvulo.

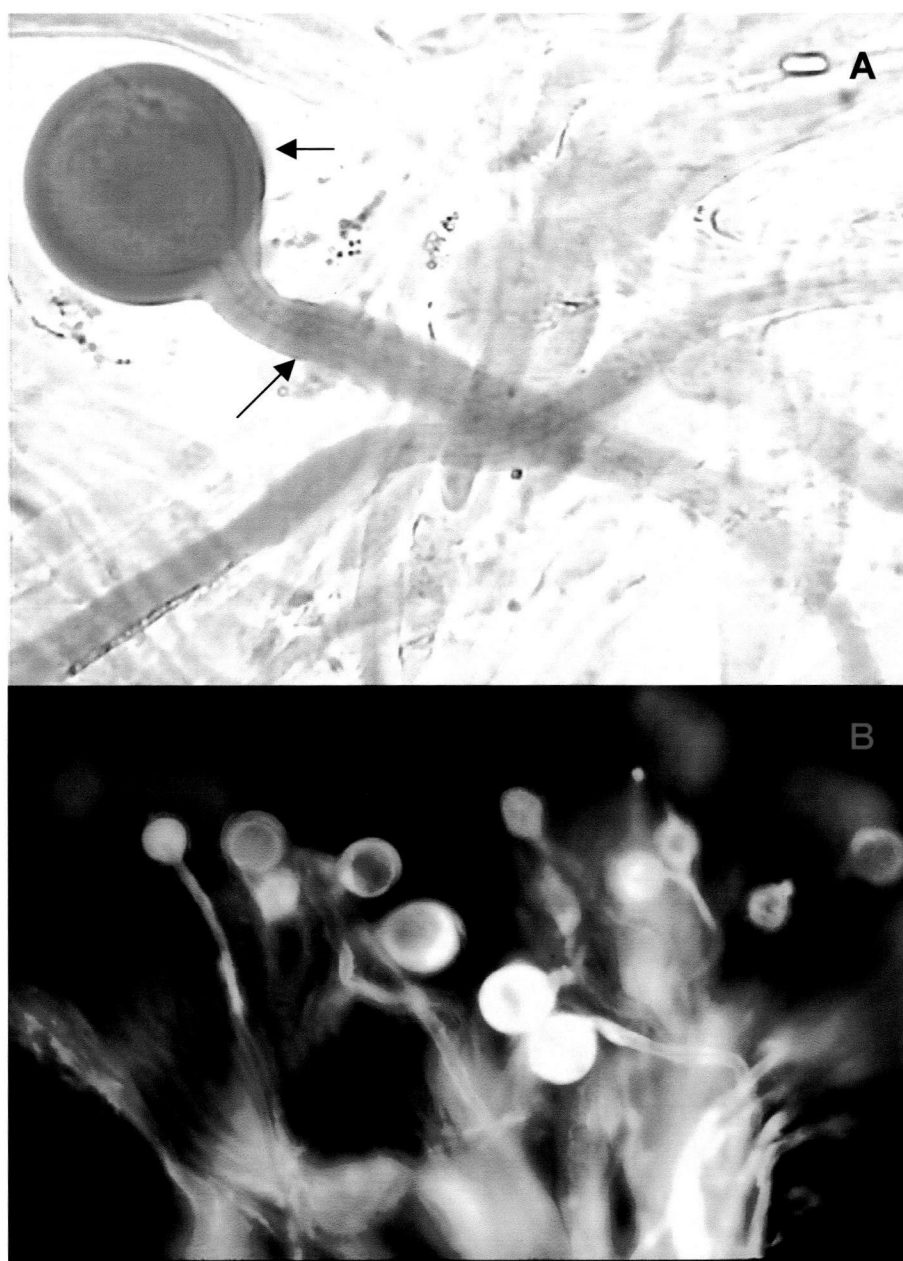


Figura 4. Granos de polen germinados en el estigma de una flor en estado femenino de aguacatero.

A. Observado con lacmoide; B. Observado mediante fluorescencia.

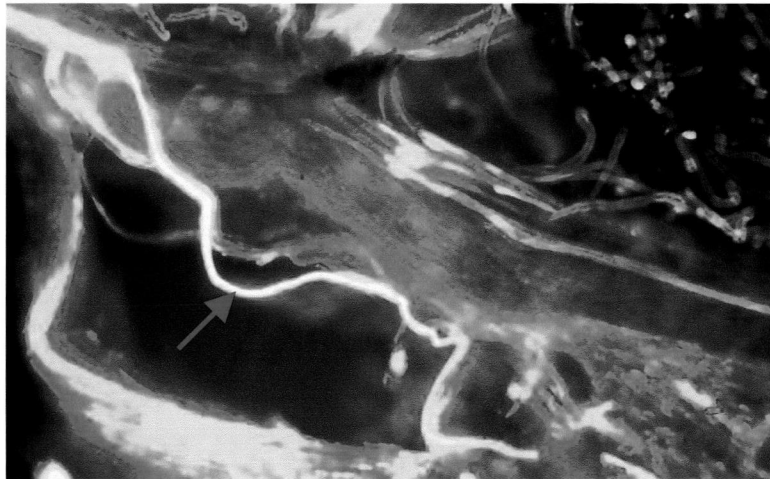


Figura 5. Penetración del tubo polínico en el ovario de una flor en estado femenino de aguacatero.



Figura 6. Penetración del tubo polínico en el óvulo de una flor en estado femenino de aguacatero.

En el Cuadro 6 se observa que en los tres cultivares evaluados la autopolinización y polinización cruzada tuvieron un efecto similar en el desarrollo de tubos polínicos a nivel del estigma y parte superior del estilo. Sin embargo, el porcentaje de flores con desarrollo de tubo polínico hasta la parte basal del estilo, ovario y óvulo, varió con los cultivares. Así, se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de flores con desarrollo de tubo polínico en la parte basal del estilo entre las flores provenientes de autopolinización y polinización cruzada de 'Hass' y 'Fuerte', más no en las del cultivar Colín V-33 (Anexos 24 - 26).

En 'Hass' y en 'Fuerte' los mayores porcentajes de flores con desarrollo de tubo polínico en la parte basal del estilo, se lograron con polinización cruzada. En 'Colín V-33' a pesar de que no hubo diferencias estadísticas significativas, la tendencia fue la misma. A nivel del ovario en los cultivares Hass y Colín V-33, los mayores porcentajes de flores con desarrollo de tubo polínico se obtuvieron con polinización cruzada. En el cultivar Fuerte no se encontraron diferencias significativas entre ambos tipos de polinización, sin embargo, la tendencia fue similar a la observada en las flores de 'Hass' y 'Colín V-33'. Además, en 'Hass' y en 'Fuerte' hubo un mayor porcentaje de flores de polinización cruzada en las cuales se observó penetración del óvulo en comparación con aquellas flores de autopolinización (Cuadro 6).

En el cultivar Colín V-33 únicamente las flores de polinización cruzada presentaron penetración de óvulo, ya que el 18 % de las flores autopolinizadas

presentó desarrollo de tubos polínicos únicamente hasta la parte basal del estilo (Cuadro 6).

Con ambos tipos de polinización el cultivar 'Hass' (Tipo A) presentó mayor porcentaje de flores con penetración de óvulo que 'Fuerte' y 'Colín V-33' (Tipo B) (Cuadro 6), probablemente porque el cultivar Hass (Tipo A) fue más tolerante a las bajas temperaturas que los del tipo "B" tal como lo indicó Sedgley (1987), ya que durante el período de polinización y desarrollo del tubo polínico los promedios de temperaturas diurnas (18.8° C) y nocturnas (9.4° C) estuvieron muy bajas (Anexo 27) para un normal y adecuado desarrollo del tubo polínico como se ha comprobado en investigaciones anteriores realizadas por Sedgley (1986), y Sedgley y Grant (1983) quienes determinaron que en aguacatero la temperatura ideal para el desarrollo del tubo polínico es de 25° C y se reduce severamente abajo de 20° C y arriba de 30° C.

A pesar de la gran cantidad de granos de polen por estigma (>30) que se observó en los pistilos de 'Colín V-33', éste presentó el menor porcentaje de flores con penetración de óvulo (Cuadro 6). Este comportamiento, además de la presencia de bajas temperaturas durante el período de polinización, estuvo relacionado con el comportamiento floral del cultivar, puesto que las polinizaciones tuvieron que realizarse a partir de las 5 a 6:30' de la tarde o durante las primeras horas de la mañana (7 a 10 a.m.), ya que esos fueron los únicos momentos en los cuales las flores presentaron apertura femenina. Cuando las polinizaciones se realizaron a partir de las 5 a 6:30' de la tarde, el

Cuadro 6. Porcentaje de flores polinizadas en estado femenino con desarrollo de tubo polínico en tres cultivares de aguacatero (1999).

Cultivar	Polinización	Granos de Polen por estigma (No.)	Flores con tubo polínico en:				
			Estigma	E1	E2	OVA	Óvulo ^x
Hass	Autopolinización	13 b ^z	100 a	80 a	48 b	40 b	30
	Polinización cruzada	26 a	100 a	98 a	76 a	60 a	40
Fuerte	Autopolinización	24 a	100 a	95 a	63 b	38 a	20
	Polinización cruzada	36 a	100 a	100 a	90 a	48 a	30
Colín V-33	Autopolinización	31 a	100 a	97 a	68 a	18 b	0
	Polinización cruzada	33 a	100 a	100 a	95 a	35 a	10

^z Medias con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de T ($P \leq 0.05$).

E1 = parte superior del estilo, E2 = parte basal del estilo y OVA = ovario.

^x Valores provenientes de una muestra de diez flores observadas en fluorescencia.

desarrollo del tubo polínico debió producirse durante la noche con una temperatura promedio de 11.6° C (Anexo 27), la cual fue muy baja para el desarrollo normal del tubo polínico. Se ha comprobado en investigaciones anteriores que las bajas temperaturas que prevalecen durante el período de floración disminuyen la velocidad de desarrollo del tubo polínico y la viabilidad del óvulo (Lovatt, 1990) y que a temperaturas de 17° C durante el día y 12° C durante la noche los tubos polínicos no logran penetrar el ovario (Sedgley, 1977b). Todo esto permite suponer que las pocas polinizaciones exitosas sólo se dieron en aquellas flores femeninas que fueron polinizadas durante las primeras horas de la mañana cuando se presentaron temperaturas un poco más favorables (20° C).

4.5.2. Amarre inicial de frutos a partir de flores en estado femenino bajo condiciones de autopolinización, polinización cruzada y polinización libre en tres cultivares de aguacatero durante el período de floración de invierno de 1999

En el período de floración de invierno de 1999 (enero - marzo) se observaron diferencias altamente significativas en el amarre inicial de frutos entre cultivares y entre tipos de polinización. La interacción entre cultivares y tipos de polinización resultó estadísticamente significativa, es decir, el amarre inicial de frutos de los cultivares varió significativamente con el tipo de polinización (Anexo 28).

Los porcentajes de amarre inicial de frutos en 'Hass' (40.63 %) y en 'Fuerte' (33.96 %) fueron superiores al obtenido en 'Colín V-33' (17.29 %) (Cuadro 7). Esto debido a que en estos dos cultivares se encontró un mayor porcentaje de flores con penetración de óvulo (Cuadro 6); es decir, el mayor porcentaje de amarre inicial de fruto estuvo relacionado directamente con el mayor porcentaje de polinización efectiva que se logró en ambos cultivares, lo cual coincide con Gazit y Shoval (1995) quienes encontraron que en los aguacateros 'Fuerte' y 'Ettinger' existió una correlación altamente significativa entre el porcentaje promedio de "polinización exitosa" (tubos polínicos que alcanzan el ovario) y el rendimiento en ambos cultivares; mostrando que la polinización puede ser considerada como un factor importante en la productividad del aguacatero. Además, Sedgley (1986) y Sedgley y Grant (1983) encontraron que la fecundación incompleta resulta en poco amarre de frutos.

Cuadro 7. Amarre inicial total de fruto (AIF) por cultivar de aguacatero durante el período de floración de invierno de 1999.

Cultivar	AIF (%)
'Hass'	40.63 a ^z
'Fuerte'	33.96 a
'Colín V-33'	17.29 b
DMS	10.05

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

La polinización manual (autopolinización y polinización cruzada) incrementó considerablemente el amarre inicial de frutos en 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33';

sin embargo, el porcentaje promedio de amarre inicial de frutos que se logró con polinización cruzada (49.58 %) fue superior al obtenido con autopolinización (37.08 %) y polinización libre (5.21 %) en todos los cultivares evaluados (Cuadro 8). El porcentaje de amarre inicial de fruto en condiciones de polinización libre fue muy bajo debido a que el porcentaje de polinización libre en 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' fue de 24, 17 y 26 %, respectivamente, con un promedio de un grano de polen por estigma, lo cual no fue adecuado para garantizar la fecundación del óvulo y el amarre de fruto; así mismo, esto indica que no hubo una adecuada transferencia de polen por parte de los agentes polinizantes principalmente abejas.

Cuadro 8. Amarre inicial de fruto (AIF) en los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' proveniente de diferentes tipos de polinización durante el período de floración de invierno de 1999.

Polinización	AIF (%)
Autopolinización	37.08 b ^z
Polinización cruzada	49.58 a
Polinización libre	5.21 c
DMS	10.05

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Como se indicó anteriormente el amarre inicial de fruto en los tres cultivares evaluados varió con el tipo de polinización. En 'Hass' y en 'Fuerte' la polinización cruzada y autopolinización contribuyeron de manera similar a incrementar el amarre de fruto, aunque los porcentajes de amarre inicial fueron un poco más altos en 'Hass' (Figura 7). Los mayores porcentajes de amarre

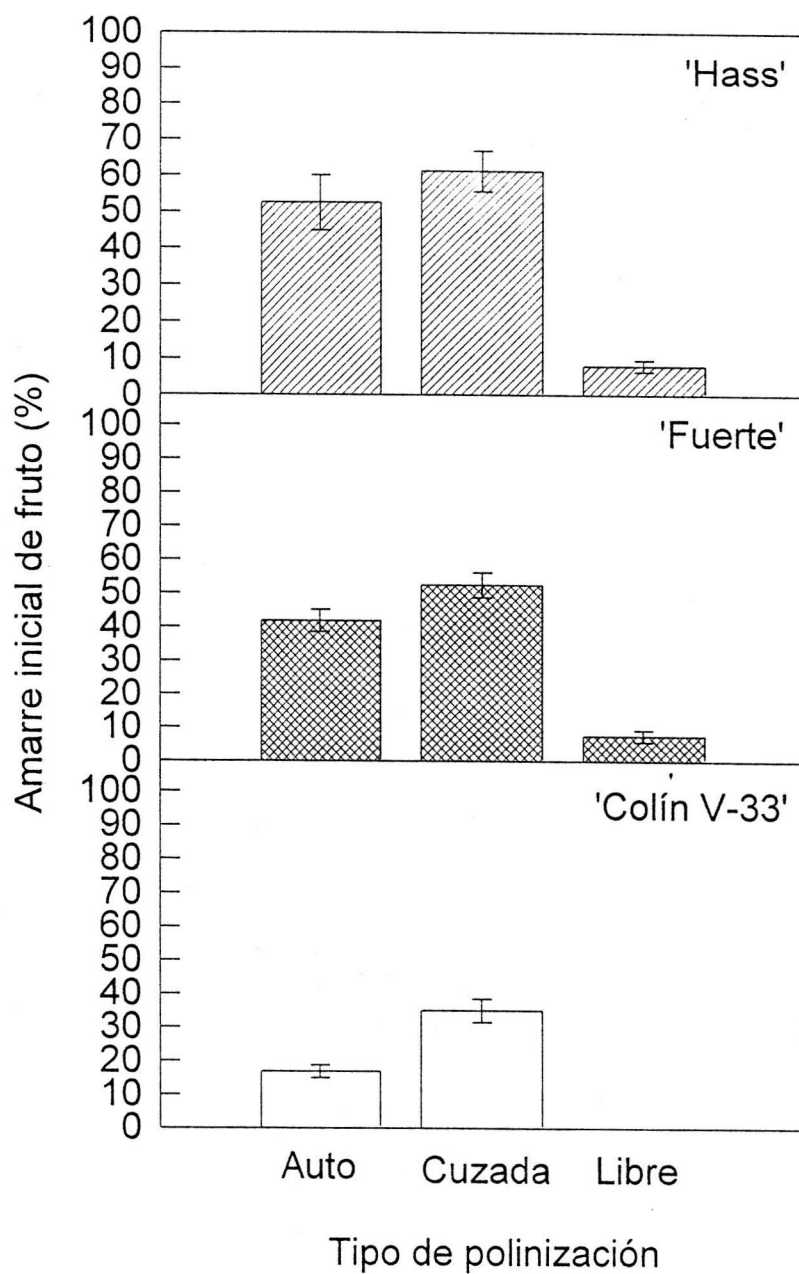


Figura 7. Amarre inicial de fruto en tres cultivares de aguacatero con diferentes tipos de polinización (1999). La barra indica el porcentaje de 160 flores polinizadas en estado femenino $\pm$ desviación estándar.

inicial en 'Hass' se debieron a que en este cultivar se lograron mayores porcentajes de polinización efectiva (Cuadro 6). En 'Colín V-33', el porcentaje de amarre inicial que se obtuvo con polinización cruzada (35 %) fue más del doble del que se logró con autopolinización (16.88 %). Además, este cultivar bajo condiciones de polinización libre no presentó amarre de frutos (Figura 7). La falta de amarre de fruto bajo condiciones de polinización libre en este cultivar fue debido a que no hubo una adecuada polinización, puesto que las aperturas femeninas se iniciaron muy tarde (5 a 6 p.m.) cuando la actividad de los insectos polinizantes (principalmente abejas) y las temperaturas fueron muy bajas para garantizar una eficiente polinización, desarrollo del tubo polínico y fecundación. Además, en este cultivar se observó gran cantidad de anomalías florales (óvulo extra-ovario, pistilos dobles, estilo bifurcado, estilo curvo etc.) lo cual también puede haber influido en el amarre de fruto.

4.5.3. Amarre inicial de fruto proveniente de autopolinización y polinización cruzada en los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante dos años consecutivos de floración

Los análisis de varianza indican que existieron diferencias altamente significativas en el amarre inicial de fruto entre los dos años de evaluación y entre los cultivares evaluados. No se encontraron diferencias significativas en el amarre inicial de fruto al usar autopolinización o polinización cruzada. La interacción entre años de evaluación y cultivares fue altamente significativa (Anexo 29).

Las comparaciones de medias muestran que en 1999 el amarre inicial de frutos en todos los cultivares (44.38 %) fue superior al obtenido en 1998 (13.13 %) (Cuadro 9). Esto probablemente estuvo asociado con el fenómeno natural de alternancia que se presentó en los árboles de los aguacateros, de manera similar a lo observado por Bekey (1992) quien encontró que la variabilidad anual de los rendimientos puede explicarse parcialmente por la polinización; sin embargo, ésta frecuentemente se acredita como una tendencia natural de “alternancia” de los árboles. También es posible que las condiciones climáticas que se presentaron durante el período de floración y amarre de fruto en 1998 y 1999 hayan determinado estas diferencias.

Cuadro 9. Amarre inicial de fruto (AIF) por año de evaluación (considerando tanto la autopolinización como la polinización cruzada) de los aguacateros ‘Hass’, ‘Fuerte’ y ‘Colín V-33’.

Año	AIF (%)
1998	13.13 b ^z
1999	44.38 a
DMS	7.73

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Los cultivares Hass y Fuerte presentaron los mayores porcentajes de amarre inicial de frutos con 39.22 % y 29.22 %, respectivamente, y el amarre más bajo correspondió a ‘Colín V-33’ (17.81 %) (Cuadro 10). En ambos años de

evaluación la tendencia fue la misma, es decir, que el porcentaje de amarre inicial de frutos de los cultivares evaluados estuvo determinado principalmente por las condiciones ambientales (Temperatura, % H.R. y radiación solar), porcentaje de polinización efectiva, comportamiento floral y presencia de anormalidades florales.

Cuadro 10. Amarre inicial de fruto (AIF) por cultivar (considerando tanto la autopolinización como la polinización cruzada) de aguacatero durante dos años consecutivos de floración.

Cultivar	AIF (%)
'Hass'	39.22 a ^z
'Fuerte'	29.22 a
'Colín V-33'	17.81 b
DMS	10.82

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

A pesar de que no se obtuvieron diferencias significativas en el amarre inicial de frutos provenientes de autopolinización y polinización cruzada al considerar los dos años de evaluación, la polinización cruzada fue más favorable para el amarre de frutos (31.57 %) que la autopolinización (25.94 %) en todos los cultivares evaluados (Cuadro 11).

Cuadro 11. Amarre inicial de fruto (AIF) en los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' por tipo de polinización durante dos años consecutivos de floración.

Tipo de polinización	AIF (%)
Autopolinización	25.94 a ^z
Polinización cruzada	31.57 a
DMS	7.73

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Esto finalmente indicó que el efecto de ambos tipos de polinización en el amarre inicial de frutos puede variar entre cultivares y de un año a otro. Así, en 'Hass' y en 'Fuerte' las diferencias en el porcentaje de amarre inicial de frutos obtenidos con autopolinización y polinización cruzada fueron mucho menores en comparación con las obtenidas en 'Colín V-33'. En este último, la polinización cruzada tuvo un efecto más favorable en el amarre inicial de frutos, puesto que en el primer año de evaluación, con autopolinización se obtuvo en promedio 8.25 % de amarre inicial de frutos y con polinización cruzada 11.25 %. En 1999 con polinización cruzada se obtuvo un 35 % de amarre inicial de frutos, prácticamente duplicando el porcentaje de amarre inicial obtenido con autopolinización (16.88 %) (Figura 8).

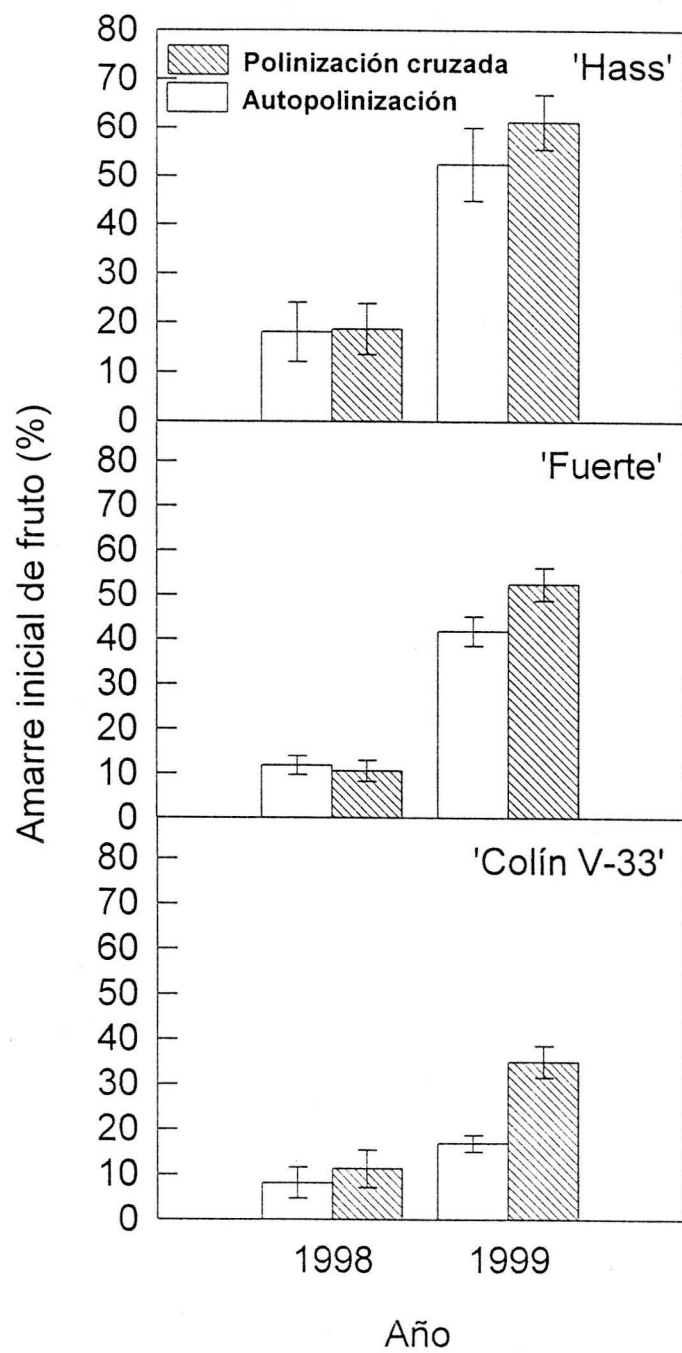


Figura 8. Amarre inicial de frutos provenientes de polinización manual en tres cultivares de aguacatero. La barra indica el porcentaje de 160 flores polinizadas en estado femenino $\pm$ desviación estándar.

4.6. Polinización abiótica

En los dos años de evaluación no existieron diferencias significativas en el número de granos de polen por estigma, en el porcentaje de flores con tubo polínico en el estigma y estilo entre los cultivares evaluados y tampoco entre el estado femenino y masculino de las flores. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas en las variables mencionadas al considerar las cuatro zonas de la copa del árbol (este, oeste, norte y sur). Las interacciones entre los factores evaluados no fueron significativas (Anexo 30).

En el primer año de evaluación (enero a marzo de 1998) no se observaron granos de polen sobre los estigmas de las flores en estado femenino ni en estado masculino de 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'. Para el segundo año de evaluación (enero a marzo de 1999) se tuvo un comportamiento similar, se observaron muy pocos granos de polen sobre los estigmas de las flores en estado femenino y masculino de todos los cultivares evaluados; observándose en promedio 0.07 granos de polen por estigma y el 1.77 % de las flores evaluadas con tubo polínico en el estigma. A pesar de que los granos de polen germinaron, ninguno de ellos desarrolló tubo polínico a través del estilo (Cuadro 12).

Cuadro 12. Desarrollo del tubo polínico en flores embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante dos años de evaluación.

Año	Granos de polen (No.) ^y	Porcentaje de flores con tubo polínico en:	
		Estigma	Parte superior del estilo
1998	0.00 a ^z	0.00 a	0
1999	0.07 a	1.77 a	0
DMS ^w	0.11	2.47	0

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

^y Promedio de 960 flores.

^w Diferencia mínima significativa.

Todos los cultivares presentaron inadecuada polinización, puesto que tuvieron muy pocos granos de polen sobre el estigma. Así, en las flores de 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33', se observaron en promedio 0.01, 0.05 y 0.05 granos de polen por estigma, respectivamente. Además, los tres cultivares presentaron un bajo porcentaje de flores con tubo polínico en el estigma. En 'Fuerte' sólo el 1.56 % de las flores evaluadas presentó tubo polínico en el estigma, en 'Hass' y 'Colín V-33' este porcentaje fue menor (0.47 % y 0.63 %, respectivamente). En ninguno de los cultivares hubo flores con desarrollo de tubo polínico a través de la parte superior del estilo (Cuadro 13). Al respecto Papademetriou (1975) mencionó que la inadecuada polinización (uno ó pocos granos de polen sobre el estigma) origina variación en el desarrollo del tubo polínico pudiendo reducir la producción del aguacatero. En tales casos algunos tubos polínicos pueden tener un desarrollo limitado, de manera que ellos nunca pueden alcanzar el

óvulo, a causa de un probable desarrollo lento o quizá un retraso en la germinación del polen, de tal forma que cuando éstos alcancen el óvulo es posible que la ovocélula no esté en buenas condiciones para la fecundación.

Cuadro 13. Desarrollo del tubo polínico en flores embolsadas de aguacatero.

Cultivar	Granos de polen (No.) ^y	Porcentaje de flores con tubo polínico en:	
		Estigma ^x	Parte superior del estilo
Hass	0.01 a ^z	0.47 a	0
Fuerte	0.05 a	1.56 a	0
Colín V-33	0.05 a	0.63 a	0
DMS ^w	0.16	3.43	0

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

^y Promedio de 640 flores.

^x Germinación de granos de polen: 100 %

^w Diferencia mínima significativa.

En los tres cultivares evaluados, la mayoría de los pistilos que presentaron granos de polen sobre sus estigmas correspondieron a las flores en estado masculino (Cuadro 14). Además, todos ellos provinieron de las flores que estuvieron ubicadas en las inflorescencias de la zona este de la copa de los árboles (Cuadro 15). Esto posiblemente ocurrió debido a que el viento generalmente incidió con mayor fuerza sobre la zona Este de la copa de los árboles, agitando las inflorescencias embolsadas, lo cual pudo facilitar la transferencia del polen por gravedad, ya sea desde las anteras de una flor hacia el estigma de la misma flor o desde las anteras de una flor hacia el

estigma de otra flor cercana en la misma rama. Además, las flores con apertura masculina no iniciaron la liberación del polen al mismo tiempo y normalmente se observaron traslapes de flores en estado masculino sin liberación de polen y flores en estado masculino que habían iniciado la liberación del polen en 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'. Es decir, las pocas flores polinizadas fueron producto de verdadera autopolinización principalmente en estado masculino, de manera similar a lo observado por Davenport *et al.* (1994), aunque hay que recordar que esto fue fortuito y en una muy baja proporción.

Cuadro 14. Desarrollo del tubo polínico en flores embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante dos estados de apertura floral.

Estado	Granos de polen (No.) ^y	Porcentaje de flores con tubo polínico en:	
		Estigma ^x	Parte superior del estilo
Femenino	0.003 a ^z	0.21 a	0
Masculino	0.069 a	1.56 a	0
DMS ^w	0.11	2.47	0

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

^y Promedio de 960 flores.

^x Germinación de granos de polen: 100 %.

^w Diferencia mínima significativa.

Cuadro 15. Desarrollo del tubo polínico en flores embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' por zona del árbol.

Zona	Granos de polen (No.) ^y	Porcentaje de flores con tubo polínico en:	
		Estigma ^x	Parte superior del estilo
Este	0.15 a ^z	3.54 a	0
Oeste	0.00 a	0.00 a	0
Norte	0.00 a	0.00 a	0
Sur	0.00 a	0.00 a	0
DMS ^w	0.19	4.30	0

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

^y Promedio de 240 flores.

^x Germinación de granos de polen: 100 %.

^w Diferencia mínima significativa.

Los resultados demostraron que probablemente no hubo transporte de polen por el viento desde las flores de otros árboles del mismo cultivar y tampoco desde los árboles de otros cultivares; ya que, en la mayoría de las flores en estado femenino de los tres cultivares evaluados, no se encontró ningún grano de polen sobre el estigma a pesar de que hubieron cultivares de tipo floral opuesto establecidos en parcelas cercanas. Esto coincide con lo encontrado por Kirk y Sherman (1998) quienes indicaron que los granos de polen del aguacatero son relativamente grandes y pegajosos, por lo cual los insectos los acarrean y no el viento, y cuando los insectos son excluidos el amarre de frutos en los árboles es muy bajo.

4.7. Amarre inicial de fruto en inflorescencias embolsadas

En cuanto al amarre inicial de fruto en inflorescencias embolsadas y por lo tanto aisladas de los insectos en 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33', se encontraron diferencias altamente significativas entre las fechas de evaluación y entre los cultivares evaluados. La interacción entre las fechas de evaluación y los cultivares resultó altamente significativa. El bloque (zona de la copa del árbol) no tuvo efecto significativo en el amarre de frutos de los tres cultivares evaluados (Anexo 31).

Durante los dos años de evaluación 'Hass' presentó mayor amarre inicial de frutos (1.63 frutos por inflorescencia) que 'Fuerte' y que 'Colín V-33', los cuales amarraron en promedio 0.30 y 0.14 frutos por inflorescencia, respectivamente (Cuadro 16).

Cuadro 16. Amarre inicial de fruto en inflorescencias embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' en dos años consecutivos de floración.

Cultivar	Frutos por inflorescencia (No.) ^y
'Hass'	1.63 a ^z
'Fuerte'	0.30 b
'Colín V-33'	0.14 b
DMS ^w	0.74

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

^y Promedio de 160 inflorescencias; ^w Diferencia mínima significativa.

A pesar de que no hubo diferencias significativas en amarre inicial de fruto entre las zonas de la copa del árbol, en la zona este de los árboles de todos los cultivares el amarre de fruto fue ligeramente más alto que en las zonas oeste, norte y sur (Cuadro 17), lo cual está relacionado directamente con el hecho de que todas las flores polinizadas estuvieron ubicadas en esta zona de la copa de los árboles (Cuadro 15).

Cuadro 17. Amarre inicial de fruto en inflorescencias embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' por zona del árbol.

ZONA	Frutos por inflorescencia	
	(No.) ^y	(%)
Este	0.934 a ^z	31.293 a
Oeste	0.462 a	30.387 a
Norte	0.514 a	31.049 a
Sur	0.841 a	30.981 a
DMS ^w	0.919	5.383

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

^y Promedio de 120 inflorescencias.

^w Diferencia mínima significativa.

En ambos períodos de evaluación (enero a marzo de 1998 y de enero a marzo de 1999), el amarre inicial de frutos fue bajo, pero en 1999 éste fue ligeramente mayor, se obtuvo un promedio de 2.5 frutos por inflorescencia en comparación con 1.38 frutos por inflorescencia obtenidos en 1998 (Cuadro 18). En ambos años, se produjo la abscisión paulatina de los frutos cuatro semanas después

de la antesis. Así, en el primer año de evaluación (1998), tres meses después de la antesis, el número de frutos disminuyó drásticamente y sobrevivieron únicamente el 0.16 % de los frutos amarrados inicialmente. En el segundo año (1999) al tercer mes de evaluación, se había producido la abscisión de todos los frutos en los tres cultivares evaluados (Figura 9).

Cuadro 18. Amarre inicial de fruto en inflorescencias embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante dos años consecutivos de floración.

Año de evaluación	Frutos por inflorescencia	
	(No.) ^y	(%)
1 ^w (1998)	1.382 ab ^z	66.667 b
2 ^v (1998)	0.033 c	3.658 d
3 ^u (1998)	0.013 c	0.167 d
4 ^w (1999)	2.510 a	100.000 a
5 ^v (1999)	0.189 bc	15.073 c
6 ^u (1999)	0.000 c	0.000 d
DMS ^x	1.224	7.169

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

^y Promedio de 240 inflorescencias.

^x Diferencia mínima significativa.

^w Un mes después de la antesis floral.

^v Dos meses después de la antesis floral.

^u Tres meses después de la antesis floral.

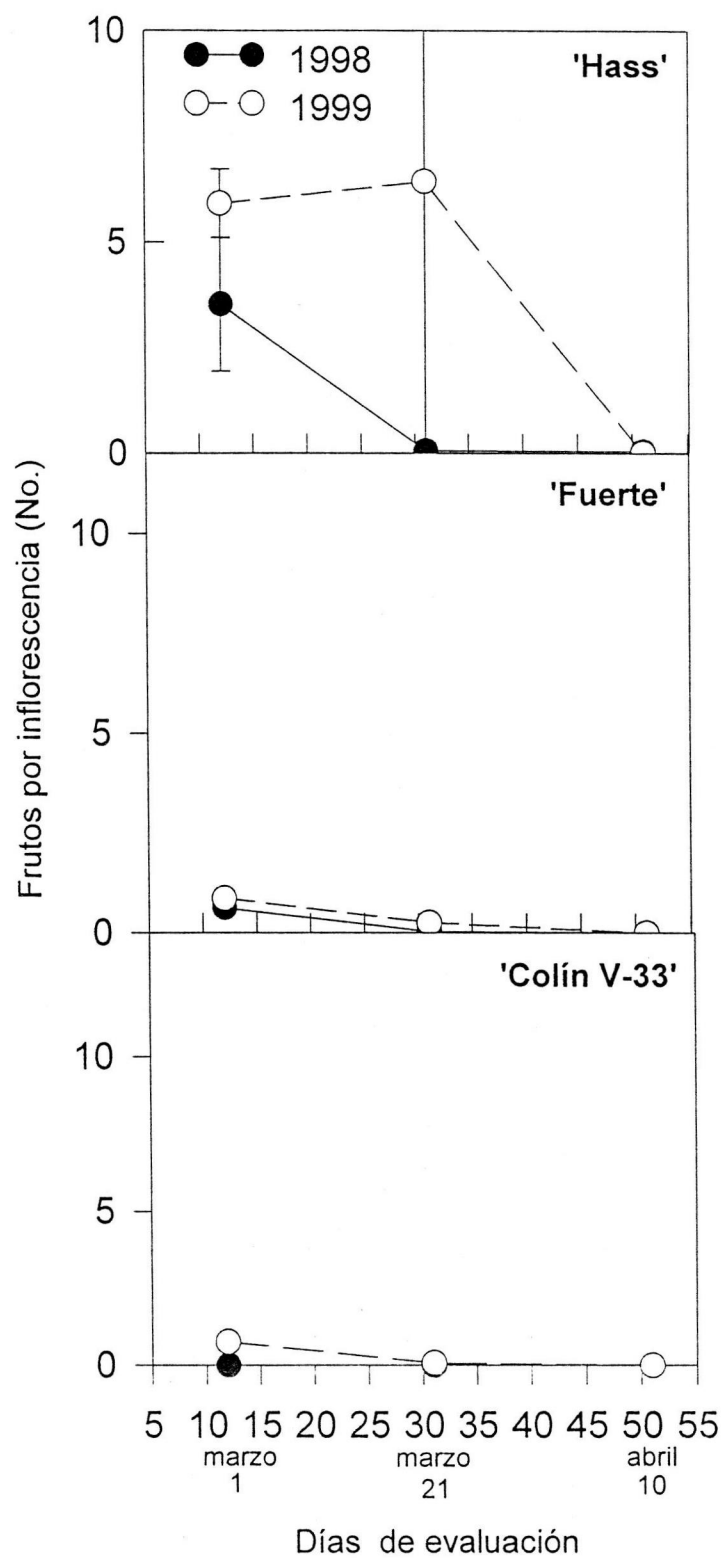


Figura 9. Amarre de fruto en inflorescencias embolsadas de tres cultivares de aguacatero. Cada punto indica el promedio de frutos de 180 inflorescencias $\pm$ desviación estándar. Evaluaciones a partir de un mes después de la antesis.

El bajo porcentaje de amarre de frutos en todos los cultivares, en los dos años de evaluación y la abscisión de los mismos, estuvo relacionado directamente con la inadecuada polinización y ausencia de fecundación en todas las flores analizadas de estos cultivares, puesto que el amarre de fruto y su desarrollo normal dependen de la culminación exitosa de la polinización y fecundación. Además, se sabe que la pobre polinización puede resultar en un bajo amarre de fruto, frutos pequeños y aborto del óvulo (Gillapsy, 1993).

Robbertze *et al.* (1998) al evaluar el efecto de la polinización y el papel de las abejas en el rendimiento de 'Hass', encontraron que los rendimientos en árboles cubiertos y con presencia de abejas en su interior, fueron significativamente más altos que en aquellos sin abejas.

Al realizar cortes anatómicos de frutos provenientes de inflorescencias embolsadas y libres, se encontró que en 1998 de 29 frutos de 'Hass' provenientes de polinización libre, 13 presentaron embrión y/o endospermo, 10 embrión, 3 endospermo y 6 nucela. En cambio, de los 60 frutos examinados provenientes de inflorescencias embolsadas, sólo dos presentaron embrión en estado globular (Figura 10), endospermo y nucela (Cuadro 19). El diámetro de frutos provenientes de inflorescencias de polinización libre y embolsadas fue similar, en promedio se tuvieron diámetros de 3.2 mm y 3.0 mm, respectivamente (Cuadro 20). Es posible que los dos frutos provenientes de las bolsas que presentaron embrión hayan sido producto de autopolinización efectiva cuando se produjo un ligero traslapo de estados florales, tal como lo

sugieren Bergh y Gustafson (1958). En 1999, de los 120 frutos evaluados (40 por cultivar) provenientes de inflorescencias embolsadas ninguno presentó embrión, endospermo y nucela.

Cuadro 19. Estudio anatómico de frutos de aguacatero 'Hass' provenientes de inflorescencias de polinización libre y embolsadas (1998).

Inflorescencias	Frutos Examinados (No.)	Frutos con embrión y/o Endospermo (No.)	Frutos normales con:		
			Embrión (No.)	Endospermo (No.)	Nucela (No.)
Polinización libre	29	13	10	3	6
Embolsadas	60	2	2	2	2

Cuadro 20. Diámetro de frutos de aguacatero 'Hass' provenientes de polinización libre y embolsadas.

Inflorescencias	Diámetro de frutos (mm)	
	Promedio	Intervalo
Polinización libre	3.2	2.7 a 4.0
Embolsadas	3.0	2.5 a 3.2

El diámetro mínimo de un frutito con embrión y/o endospermo fue de 2.7 mm.

El diámetro mínimo de un frutito con una semilla normal fue de 2.9 mm.

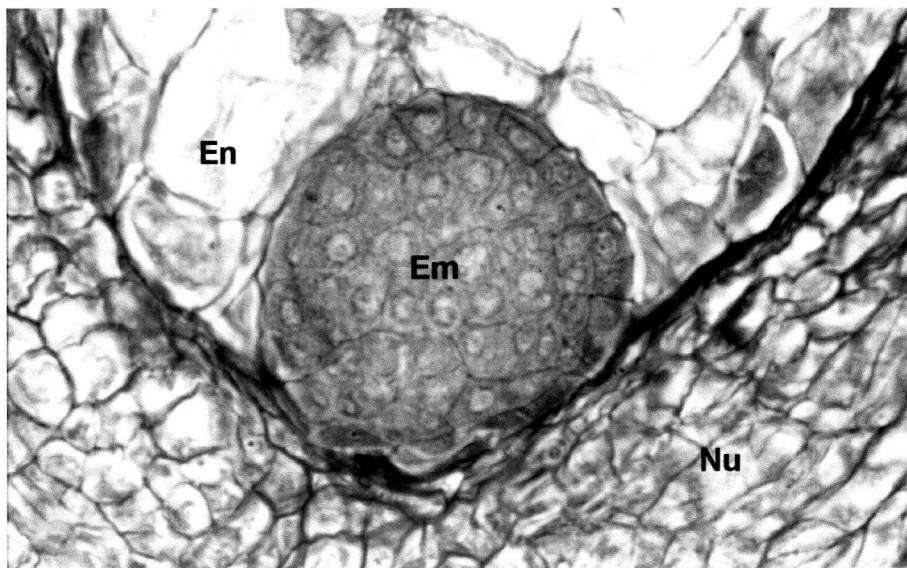


Figura 10. Embrión en estado globular de aguacatero 'Hass'.

Em = Embrión; Nu = Nucela y En = Endospermo.

La ausencia de polinización en las flores evaluadas en el primer año y la inadecuada polinización de todas las flores analizadas en el segundo año, justificaron la falta de embrión en casi todos los frutos evaluados en ambos períodos de floración, y demostraron que el desarrollo inicial del fruto puede ocurrir en ausencia de fecundación. La ausencia de embrión fue a su vez la principal causa de la abscisión de frutos al tercer mes de evaluación, en los tres cultivares evaluados (Cuadros 19). Esto coincide con lo reportado por Lovatt (1994), quien mencionó que la polinización puede inicialmente estimular el desarrollo del ovario y el amarre inicial del fruto, pero este estímulo se acaba en 2 a 4 semanas después de la polinización y por lo tanto se produce la abscisión de los frutos. El estímulo primario para el crecimiento del fruto es producido por el polen durante la germinación y crecimiento del tubo polínico y durante o después de la fusión del núcleo. Los factores del crecimiento por los cuales el polen influye en el amarre de fruto probablemente involucran fitohormonas como auxinas y giberelinas (Nietsch, 1970; citado por Gillapsy, 1993). Un estímulo secundario emana de la semilla en desarrollo y en particular, del endospermo, el cual empieza a crecer rápidamente e inmediatamente después de la fecundación, produciendo altos niveles de auxinas (Lee, 1987; citado por Salazar-García, 1999). Además, se ha reportado que los aguacateros aparentemente no son polinizados por el viento y requieren del transporte activo del polen por insectos, particularmente abejas (Free, 1993). Finalmente, todo esto demostró que para los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33', creciendo bajo las condiciones de Coatepec Harinas, México, la polinización

abiótica no es significativa y que para lograr un alto porcentaje de amarre de frutos se requiere de la presencia y actividad de los insectos polinizantes

4.8. Viabilidad del polen

Al realizar las observaciones microscópicas se encontró que los granos de polen viables se tiñeron de rojo intenso y fueron de forma esférica, con la pared celular bien definida y con una superficie granular o espinosa. Los poros no germinativos se observaron tenues en la superficie del grano. Los granos de polen viables fueron más grandes que los estériles (Figura 11), lo cual coincide con lo observado por Inoue *et al.* (1992). Los granos de polen no viables no se tiñeron o se tiñeron poco (color marrón claro). Algunos de ellos presentaron reducción del citoplasma y oscurecimiento del mismo, el grosor de la exina fue variable. También se encontraron granos de polen desnudos, granos con lóbulo y en algunos casos se observó el vaciado del citoplasma, ocasionado por la ruptura de la pared celular de los granos de polen (Figuras 12), de manera similar a lo observado por Steyn (1993), quien encontró que los lóculos defectuosos de las anteras de 'Fuerte' contienen granos de polen de forma anormal, pobre capacidad de tinción y débil resistencia a la ruptura, en comparación con los granos de polen de lóculos normales. Algunas de estas anomalías indicaron que los defectos resultan de un desorden en la división meiótica de las células madres del polen.

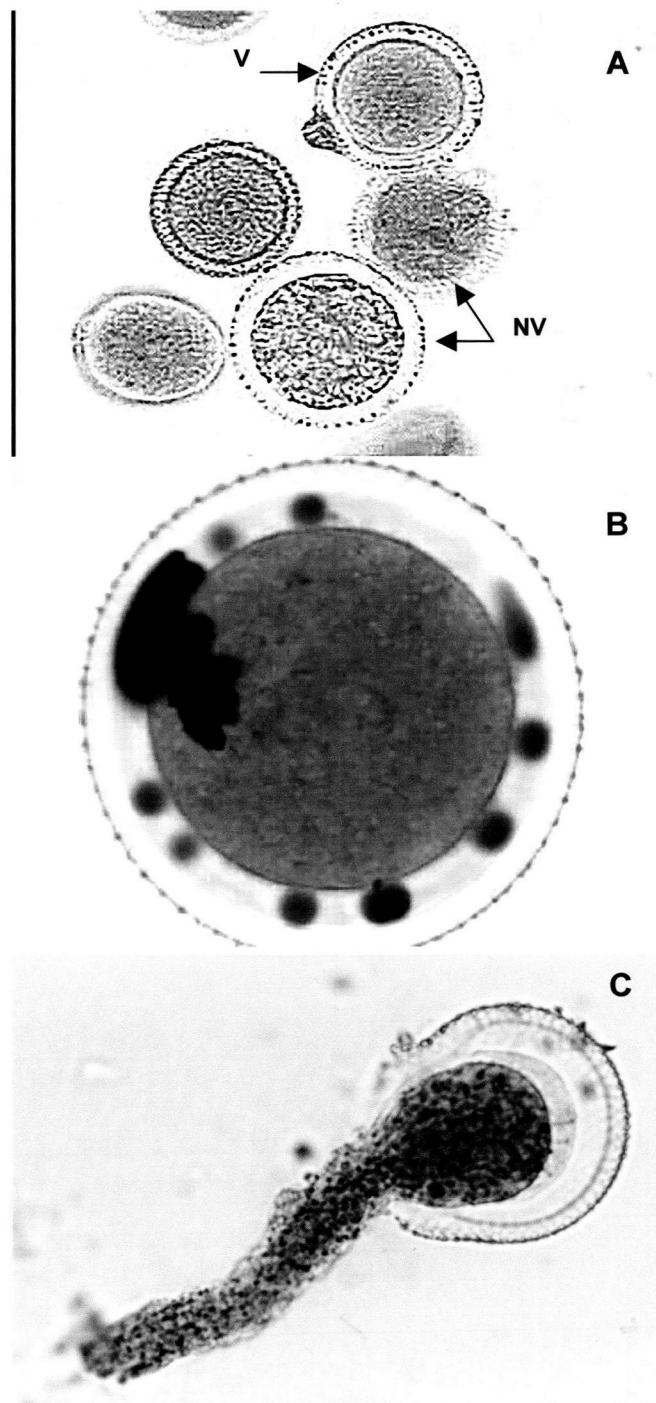


Figura 11. Granos de polen de aguacatero 'Fuerte'.

A. Grano viable (V) y granos no viables (NV), B. Grano no viable, C. Grano con ruptura de pared celular y vaciado del citoplasma.

Los análisis de varianza indican que existieron diferencias altamente significativas en la viabilidad del polen entre fechas de evaluación y entre cultivares evaluados. La viabilidad del polen de 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' varió significativamente en los dos años de evaluación (Anexo 32).

En el Cuadro 21 se aprecia que en la segunda y tercera fecha de evaluación (1999) el porcentaje promedio de viabilidad del polen de todos los cultivares fue superior (95 y 92 %, respectivamente) al obtenido en 1998 (88 %). Esto posiblemente debido a que en la segunda y tercera fecha de evaluación, la colecta y el transporte de las flores se realizó cuando las condiciones de temperatura fueron más bajas (13.6° C y 11.8° C, respectivamente) y la humedad relativa más alta (51.3 % y 55.0 %, respectivamente) que en la primera fecha de evaluación, donde se tuvo una temperatura promedio de 23° C y 28 % de humedad relativa, lo cual favoreció a conservar mejor la viabilidad del polen.

Todos los cultivares tuvieron alto porcentaje de granos de polen viables durante las tres fechas de evaluación, siendo estos superiores al 81 % (Cuadro 22). Sin embargo, 'Hass' y 'Colín V-33' presentaron los mayores porcentajes de viabilidad del polen (93 y 95 %, respectivamente) y el porcentaje más bajo se observó en 'Fuerte' (86 %) (Cuadro 23).

Cuadro 21. Viabilidad del polen de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33', determinado por tinción con tetrazolium.

Fecha	Granos de polen	
	Observados (No.)	Viables (%)
1 (15/03/1998)	4353	88 b ^z
2 (18/02/1999)	2605	95 a
3 (05/03/1999)	3134	92 ab
DMS ^y		6.48

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

^y Diferencia mínima significativa.

Cuadro 22. Viabilidad del polen de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante tres fechas de evaluación.

Fecha	Cultivar	Granos de polen	
		Observados (No.)	Viables (%)
1 (15/03/1998)	'Hass'	1679	83
	'Fuerte'	1181	89
	'Colín V-33'	1493	93
2 (18/02/1999)	'Hass'	547	98
	'Fuerte'	805	89
	'Colín V-33'	1253	97
3 (05/03/1999)	'Hass'	782	98
	'Fuerte'	1063	81
	'Colín V-33'	1289	97

Cuadro 23. Viabilidad del polen de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'.

Cultivar	Granos de polen	
	Observados (No.)	Viables (%)
'Hass'	3008	93 ab ^z
'Fuerte'	3049	86 b
'Colín V-33'	4035	95 a
DMS ^y		6.48

^z Valores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

^y Diferencia mínima significativa.

En estudios anteriores se ha revelado que el efecto del boro en la germinación de los granos de polen y desarrollo de los tubos polínicos es mucho más marcado que el de cualquier fitohormona, vitamina u otra sustancia química (Pimienta, 1987). Además, se requiere para las divisiones mitóticas necesarias para producir el esperma (Lovatt y Dugger; citados por Lovatt, 1993). Steyn (1993) sugirió que muchos árboles de 'Fuerte' no son convenientes para actuar como donadores de polen, ya que de 700 lóculos analizados aproximadamente el 50 % de éstos produjo polen defectuoso. Todos los árboles muy productivos tuvieron algunas flores con lóculos defectuosos y una alta proporción de flores con lóculos defectuosos podría ocurrir en árboles poco productivos. En este experimento el porcentaje de granos de polen defectuosos que presentó 'Fuerte' no fue muy alto.

En otros estudios se observó que el polen de la mayoría de las plantas con estigmas húmedos es liberado en el estado binuclear antes de la formación del gameto. Sin embargo, en 'Fuerte', se determinó, que alrededor del 80 % del polen fue liberado en estado de microspora o unicelular. Este polen inmaduro liberado puede contribuir a su baja viabilidad y resultar en poco amarre de fruto (Pimienta, 1987). Además, Robbertze *et al.* (1990) encontraron que cuando los pistilos de árboles de aguacatero que recibieron una aplicación foliar de boro, fueron polinizados con polen de árboles también asperjados con boro, la germinación del polen, el crecimiento del tubo polínico y el número de tubos polínicos que alcanzaron el óvulo, fueron mejores, que en las flores de árboles no tratados.

4.9. Granos de polen por antera

En cuanto al número de granos de polen por antera en flores de aguacatero los análisis de varianza indican que existieron diferencias altamente significativas entre los cultivares evaluados. El coeficiente de variación obtenido fue bajo (11.56 %), lo cual indica que el número total de granos obtenidos en cada uno de los conteos fue bastante similar, por lo tanto se puede decir que el método de conteo utilizado fue eficiente (Anexo 33). Esto coincide con lo reportado por Schroeder (1955), quien señaló que el número de granos de polen producidos por una antera, que proviene de una misma flor, es aproximadamente constante sin tener en cuenta la ubicación del estambre.

Las comparaciones de medias, indican que existieron diferencias significativas en número de granos de polen por antera entre los cultivares Fuerte y Colín V-33'. Por el contrario, no se encontraron diferencias entre 'Hass' y 'Colín V-33', ni tampoco entre 'Hass' y 'Fuerte'. El mayor número de granos de polen por antera en promedio lo presentó 'Colín V-33' (1,137) y el menor número correspondió a 'Fuerte' (894). Este comportamiento coincidió con las observaciones hechas en campo, donde se pudo apreciar a simple vista que 'Colín V-33' liberó mayor cantidad de polen y que incluso, éste fue más vistoso (color amarillo intenso) que el polen de 'Hass' y de 'Fuerte' (Cuadro 24).

Cuadro 24. Granos de polen por antera en tres cultivares de aguacatero; diez anteras evaluadas por cultivar.

Cultivar	Granos de polen por antera (No.)
Colín v-33	1,137 a ^z
Hass	1,008 ab
Fuerte	894 b
DMS ^y	129.85

^zValores con la misma letra dentro de columnas son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

^y Diferencia mínima significativa.

Schroeder (1955) encontró que el número promedio de granos de polen en flores de aguacatero 'Hass' fue de 7,641 granos y en 'Fuerte' de 4,743. Además, sugirió que el clima puede influir en la producción de polen. Por

ejemplo, para el cultivar Fuerte, conducido bajo diferentes condiciones ambientales, encontró que el número promedio de granos de polen por flor varió desde 4,743 bajo condiciones de costa hasta 9,747 cuando este es cultivado en zonas más altas; lo cual indica que la producción de polen es más favorable y considerablemente superior en áreas localizadas a mayor altura que a lo largo de la costa (Schroeder, 1953). La cantidad de granos de polen por antera que se obtuvo en este trabajo para el cultivar Fuerte (considerando todas las anteras) fue muy similar al reportado por este autor.

A pesar de que 'Colín V-33' tuvo bajo porcentaje de amarre de fruto, presentó una buena producción de polen; por lo que podría sugerirse que su baja productividad probablemente se deba a otros factores, entre ellos la presencia de anomalías florales y a su comportamiento floral o a las temperaturas.

Se encontró una correlación positiva entre el número de granos de polen por antera y los cultivares evaluados, lo cual indica que la cantidad de granos de polen varía y depende en gran medida del cultivar que se trate (Cuadro 25). Además, Schroeder (1955) ha reportado que existe una correlación entre la abundante producción de frutos de los cultivares y su producción de polen. También determinó que en los cultivares observados los granos de polen tiñeron bien y probablemente fueron viables, ocasionalmente sólo un grano tuvo apariencia anormal.

Cuadro 25. Coeficiente de correlación (r) para la variable granos de polen por antera en tres cultivares de aguacatero.

	Cultivar	Granos de polen por antera (No.)
Cultivar	$r = 1.0$	$r = 0.66617^{**}$
Granos de polen por antera (No.)		$r = 1.0$

****** Diferencia altamente significativa ($P \leq 0.01$).

En otros estudios se ha observado que el número de granos de polen por antera está directamente relacionado con el tamaño de la misma. Encontrándose que en anteras de mediana longitud (1.5 mm) el número de granos varió entre 750 a 850, sin tener en cuenta si las anteras procedían de la misma flor, diferentes flores del mismo árbol ó flores de diferentes árboles, produciéndose mayor cantidad de granos en los lóculos proximales, las anteras largas contenían aproximadamente 1,000 granos de polen y las anteras cortas totalizaron aproximadamente 600 granos de polen. Los lóculos defectuosos produjeron granos de polen de forma anormal, con poca capacidad de tinción y una débil resistencia a la ruptura, al compararse con granos de polen de lóculos normales (Steyn, 1993).

5. CONCLUSIONES

Los estigmas de las flores de 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' fueron receptivos en estado femenino y en estado masculino antes y después de liberado el polen. En los tres estados de apertura floral de cada uno de los cultivares, los granos de polen germinaron bien. Sin embargo, la receptividad de los estigmas disminuyó a medida que transcurrió más tiempo desde la primera apertura de las flores. Los pistilos de las flores de 'Hass' y 'Fuerte' fueron más receptivos en estado femenino y masculino antes de liberado el polen, puesto que en ambos estados se encontró mayor porcentaje de flores con tubo polínico en el ovario. En los pistilos de las flores en estado masculino después de liberado el polen de ambos cultivares los tubos polínicos no desarrollaron más allá de la parte superior del estilo.

En el cultivar Colín V-33 únicamente el 5 % de las flores polinizadas en estado femenino presentó tubo polínico en el ovario. En el estado masculino antes y después de liberado el polen, los tubos polínicos no desarrollaron más allá de la parte basal del estilo.

La reducción del desarrollo del tubo polínico en los pistilos de las flores en estado masculino antes y después de liberado el polen de todos los cultivares

estuvo asociado a la presencia de deposiciones de calosa y engrosamiento de los ápices de los tubos polínicos en la parte superior y basal del estilo. En el estado masculino después de liberado el polen se observaron acumulaciones de calosa junto a los haces vasculares del óvulo.

Las bajas temperaturas que prevalecieron durante el período de experimentación (18.5° C durante el día y 9.9 ° C durante la noche), disminuyeron la velocidad de desarrollo del tubo polínico a través del estilo ocasionando que éste no llegara a fecundar el óvulo 48 horas después de la polinización.

El período de receptividad del pistilo en el cultivar Hass (Tipo A) fue mayor que en 'Fuerte' (Tipo B) y en 'Colín V-33' (Tipo B), puesto que presentó mayor porcentaje de flores en estado femenino y masculino antes de liberado el polen con tubo polínico en el ovario.

La diferencia en el período de receptividad del pistilo en los diferentes estados de apertura floral estuvo determinada por las condiciones ambientales (temperatura, humedad relativa y radiación solar) y el comportamiento floral de los cultivares.

Las bajas temperaturas y días nublados alteraron el comportamiento floral de los cultivares. El cultivar Hass se comportó como un cultivar del tipo B y frecuentemente presentó traslapos de estados florales, ya sea por la mañana o

por la tarde. En 'Fuerte' y 'Colín V-33' (Tipo B) hubo ausencia de apertura femenina o bien ésta se retrasó por más de cuatro horas. En 'Colín V-33' el retraso de la apertura femenina fue constante y generalmente se inició a partir de las cinco o seis de la tarde cuando las temperaturas fueron demasiado bajas para garantizar una eficiente polinización y adecuado desarrollo del tubo polínico.

En los cultivares Fuerte y Colín V-33 (Tipo B) el traslapo de estados florales fue menos frecuente que en 'Hass' (Tipo A). En 'Fuerte' generalmente esto ocurrió al medio día permaneciendo aproximadamente una hora y en 'Colín V-33' se produjo en las primeras horas de la mañana y no duró más de media hora.

Bajo condiciones de temperaturas bajas, la fertilidad del cultivar Hass (Tipo A) se conservó mejor que la de 'Fuerte' y la de 'Colín V-33' (Tipo B).

En los aguacateros 'Hass' y 'Colín V-33' fue factible obtener amarre inicial de frutos en el estado femenino y masculino antes de liberado el polen. Sin embargo, ocho semanas después de la polinización sólo sobrevivieron los frutos provenientes de flores polinizadas en estado femenino. En el cultivar Fuerte únicamente se logró amarre inicial de frutos en el estado femenino, lo cual demostró que la polinización en estado masculino bajo las condiciones de Coatepec Harinas, México no es efectiva.

La autopolinización y polinización cruzada tuvieron un efecto similar en el porcentaje de germinación de granos de polen y en el porcentaje de desarrollo de tubos polínicos a través del estilo y el ovario en los tres cultivares evaluados. Con ambos tipos de polinización, sólo un tubo polínico logró penetrar al ovario y en todos los casos la polinización cruzada permitió obtener mayor porcentaje de flores con penetración de óvulo que la autopolinización.

El amarre inicial de fruto de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33', estuvo influenciado por las condiciones ambientales, comportamiento floral, tipo de polinización y porcentaje de polinización efectiva.

El porcentaje de amarre inicial de frutos en los aguacateros 'Hass' y 'Fuerte' fue superior al obtenido en 'Colín V-33' al emplear cualquier tipo de polinización.

El amarre inicial de frutos que se obtuvo con autopolinización (37.08 %) y polinización cruzada (49.58 %) fue superior al obtenido bajo condiciones de polinización libre (5.21 %) en los tres cultivares evaluados.

La polinización cruzada permitió obtener un mayor porcentaje de amarre inicial de frutos que la autopolinización. Sin embargo, este porcentaje varió entre cultivares y de un año a otro.

En los aguacateros 'Hass' y 'Fuerte' la polinización cruzada y la autopolinización tuvieron un efecto similar en amarre inicial de frutos. En 'Colín V-33' la polinización cruzada duplicó el amarre inicial de frutos obtenido con autopolinización.

Los cultivares Hass y Colín V-33 presentaron mayor cantidad de granos de polen por antera (1008 y 1137, respectivamente) y mayor porcentaje de viabilidad de polen (93 y 95 %, respectivamente) que 'Fuerte' (894 granos y 86% de viabilidad).

La cantidad de polen producido en las anteras y la viabilidad del mismo aparentemente no son limitantes para el amarre de fruto en 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'.

La polinización abiótica en el aguacatero es insignificante (aunque es necesario realizar más estudios) en el amarre de fruto, por lo cual es necesaria la presencia de los insectos polinizantes.

La falta de embrión en todos los frutos de inflorescencias embolsadas, demostró que el desarrollo inicial de fruto (2.5 a 3.2 mm de diámetro) en los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' se puede producir en ausencia de fecundación. No obstante, estos frutos no pueden completar su desarrollo.

6. LITERATURA CITADA

- Avilan, L.; y M. Rodríguez. 1995. Epoca de floración y cosecha del aguacate en la región norte de Venezuela. *Agronomía Trop.* 45(1): 35-50.
- Avitia G., E. 1996. Anatomía precigotica y postzigotica en relación al aborto de óvulos y semillas en *Spondias purpurea* L. Tesis de Doctor en Ciencias. Programa de Botánica. Instituto de Recursos Naturales, Colegio de Posgraduados. Montecillo, México. 118 p.
- Bekey, R. 1992. To be or not to be pollination of avocados. *California Grower* 1: 30-32.
- Bergh, B. O. and C. D. Gustafson. 1958. Fuerte fruit set as influenced by cross-pollination. *California Avocado Soc. Yrbk.* 42: 64-66.
- Bergh, B. O. 1969. Avocado (*Persea americana* Mill.), pp. 23 - 51. *In: Outlines of Perennial Crop Breeding in the Tropics.* F.P. Ferwerda and E. Miscellaneous (eds.). Landbouwhogeschool. Wageningen. The Netherlands.
- Bergh, B.O. 1975. Avocados, pp. 541 - 567. *In: Advances in Fruit breeding.* J. Janick and J.N. Moore (eds.). Purdue University Press. West Lafayette, Indiana, USA.
- Bergh, B.O.; and N. Ellstrand. 1986. Taxonomy of the avocado. *California Avocado Society Yrbk* 70: 135-145.
- Bergh, B. O.; and E. Lahav. 1996. Avocados, pp. 113-166. *In: J. Janick and J. N. Moore (eds.). Fruit Breeding. Vol. 1. Chapter 3.* John Willey & Sons, Inc. USA

- Bertling, I.; and S. Köhne. 1986. Investigation into fruitset of avocado. South African Avocado Growers' Association Yearbook 9: 59-60.
- Brooks, R. M.; and H. P. Olmo. 1972. Register of new fruit and Nut Varieties. Second Edition. Berkeley California. USA. 708 p.
- Castillo G., A. M. 1996. Fluctuación anual de carbohidratos y nutrimentos en relación al amarre de fruto en aguacate (*Persea americana* Mill.) cv. 'Colín V-33'. Tesis de Doctor en Ciencias, Programa de Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados Montecillos, México. 137 p.
- Cautín M., R. 1996. Nuevos antecedentes sobre requerimientos de polinización y variedades. Universidad de Chile; Chile. Publicaciones Miscelaneas Agrícolas Nº 45: 15 -29.
- Coetzer, L. A.; and P. J. Robbertse. 1987. Pollination biology of *Persea americana* 'Fuerte'. Programme and extended abstracts of Second World Avocado Congress. p. 15.
- Davenport, T.L. 1986. Avocado flowering Hort. Rev. 8: 257-289.
- Davenport, T. L. 1989. Pollen deposition on avocado stigmas in Southern Florida. HortScience 24(5): 844-845.
- Davenport, T. L.; and E. Lahav. 1992. Is a pollinator required to maximize avocado production?, pp. 667-668. In: C. J. Lovatt (ed.). Proc. 2nd. World Avocado Congr., Orange, California.
- Davenport, T. L.; P. Parnitzi; S. Fricke; and S. Hugues. 1994. Evidence and significance of self-pollination of avocados in Florida. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 119(6): 1200-1207.
- Davie, S. J.; M. Van Der Walt; and P. J. C. Stassen. 1995. A study of avocado tree carbohydrate cycles to determine ways of modifying alternate bearing. World Avocado Congress III. Program Book of Abstracts. Tel Aviv, Israel. p. 4.

- Degani, C.; R. El-Batsri; and S. Gazit. 1995. Hybrid percentage and yield in 'Ardith'-'Ettinger' plots. . World Avocado Congress III. Program and book of abstracts. Tel Aviv, Israel. p. 36.
- DeGrandi-Hoffman, G. 1987. The Honey bee pollination Component of horticultural crop production systems. Horticultural Reviews 9: 237-272.
- Díaz A., J. 1979. El cultivo del aguacate. FIRA. Banco de México. D. F., México. 84 p.
- Dumas, Ch.; A. E. Clarke; and R. B. Knox. 1985. La fecundación de las flores. Mundo Científico 44(5): 188-197.
- Eardley, C.D.; and M. W. Mansell. 1993. Preliminary report on the natural occurrence of insect pollinators in an avocado orchard. South African Avocado Growers' Association Yrbk. 16: 127-128.
- Eardley, C. D.; and M. W. Mansell. 1996. The natural occurrence of insect pollinators in an avocado orchard. South African Avocado Growers' Association Yrbk. 19: 36-38.
- Ellstrand, N. 1992. Sex and the single variety. Calif. Grower 1: 22-23.
- Finazzo, S. F.; T. L. Davenport; and B. Schaffer. 1994. Partitioning of photoassimilates in avocado (*Persea americana* Mill.) during flowering and fruit ser. Tree Physiology 14: 153-164.
- Foguet, J. L.; H. F. Vinciguerra; y A. S. Blanco. 1994. La palta Hass en Tucumán. Avance Agroindustrial 14(56): 9-11.
- Free, J. B. 1993. Insect Pollination of Crops. 2nd. edition. Academic Press. Cambridge, Great Britain. 679 p.
- García V., A. 1998. Técnicas y Procedimientos de Citología Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 196 p.

- Gardiazabal, F.; and S. Gandolfo. 1995. Study on self-pollination and cross-pollination avocado plants with other varieties. World Avocado Congress III. Program and book of abstracts. Tel Aviv, Israel. p. 35.
- Gazit, S.; and S. Shoval. 1995. The relationship between pollination rate and yield in 'Fuerte' and 'Etinger' avocado. World Avocado Congress III. Program and book of abstracts. Tel Aviv, Israel. p. 32.
- Gazit, S.; S. Shoval; E. Katz; and D. Eisenstein. 1995. Can commercial avocado cultivars in Israel set fruit after pollination at the male opening stage? . World Avocado Congress III. Program and book of abstracts. Tel Aviv, Israel. p. 34.
- Goldwin, G. K. 1992. Environmental and internal regulation of fruiting, with particular reference to Cox's. Orange Pippin apple, pp. 75-100 *In*: C. Marshall and J. Grace (eds.). Fruit and Set Production: Aspects of Development, Environmental Physiology and Ecology. Cambridge Univ. Press. Great Britain.
- Guil, I.; and S. Gazit. 1991. Pollination of the Hass avocado cultivar. Proceedings of the World Avocado Congress II. Orange CA, USA. p. 241.
- Harrison, J. H. 1975. Incompatibility and the pollen-stigma interaction. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 26: 403-425.
- Ibar, A. L. 1979. Aguacate, Chirimoya, Mango Papaya. Editorial Aedos. Barcelona España. 173 p.
- Inoue, H.; and B. Takahashi. 1991. Scanning electron microscope observation of abnormal flowers and the frequency in avocado trees. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 59(4): 703-710.
- Inoue, H.; B. Takahashi; and K. Shirato. 1992. Morphology and fertility of pollen of avocado (*Persea americana* Mill.). *Japanese Journal of Tropical Agriculture* 36 (1): 45-50.

- Ish-Am, G.; and D. Eisikowich. 1991. New insight into avocado flowering in relation to its pollination. Calif. Avocado Soc. Yrbk. 75: 125-137.
- Ish-Am, G. 1994. Interrelationship between avocado flowering and honey bees and its implication on the avocado fruitfulness on Israel. Ph. D. Thesis (in Hebrew). 160 p.
- Ish-Am, G.; and D. Eisikowich. 1998. Quantitative approach to avocado pollination. Proceedings of World Avocado Congress III 1995. Tel Aviv, Israel. p. 46-51.
- Ish-Am, G.; and D. Eisikowitch. 1998. Low attractiveness of avocado (*Persea americana* Mill.) flowers to honeybees (*Apis mellifera* L.) limits fruit set in Israel. Journal of Hort. Sci. & Biotechnology 73(2): 195-204.
- Joseph, P. M. 1993. Molecular mechanisms of pollen tube growth and differentiation. The Plant Cell 5: 1303-1414.
- Kadman, A.; E. Tomer; and M. Gottreich. 1974. Some abnormalities observed in avocado fruits and flowers. Calif. Avocado Soc. Yrbk. pp. 115-117.
- Kapil, N. R. and Bhatnagar, 1975. A fresh look at the process of double fertilization in angiosperms. Phytomorphology 25: 334-368.
- Kirk, V. P.; and G. Sherman. 1998. Insect visitors to avocado flowers. Subtropical Fruit News 6(1): 7-10.
- Kopp, L. E. 1966. A taxonomic revision of the genus *Persea* in the western hemisphere (*Persea* - Lauraceae). Memoirs of the New York Bot. Garden 14(1): 1-120.
- Kremer-Köhne, S.; and J. S. Köhne. 1996. Possible means to increase Hass avocado fruit size. South African Avocado Growers' Association Yearbook 19: 92.

- Loupassaki, M.; M. Vasilakakis; and I. Androulakis. 1997. Effect of pre-incubation humidity and temperature treatment on the *in vitro* germination of avocado pollen grains. *Euphytica* 94: 247-251.
- Lovatt, C. J. 1990. Factors affecting fruit set/early fruit drop in avocado. *Calif. Avocado Soc. Yrbk.* 74: 193-199.
- Lovatt, C. J. 1993. Physiology of reproduction of citrus and avocado. VI Curso de Actualización Frutícola. Fundación Salvador Sánchez Colín - CICTAMEX, S.C. Coatepec Harinas, México. pp. 118-144.
- Lovatt, C. J. 1994a. Improving fruit set and yield of 'Hass' avocado with a spring application of boron and/or urea to the bloom. *Calif. Avocado Soc. Yrbk.* 78: 167-173.
- Lovatt, C. J. 1994b. Improving fruit set and yield of 'Hass' avocado with a bloom application of potassium phosphate or potassium phosphate alone or in combination with boron or urea. *Calif. Avocado Soc. Yrbk.* 78: 175-177.
- Lovatt, C. J.; I. Bertling; and M. Blanke. 1994. Comparison of determinate vs. indeterminate inflorescences to determine the roles of PGR's, carbohydrate, nitrogen and other nutrients in fruit set the 'Hass' avocado. *California Avocado Society Yrbk.* 78: 183-186.
- Mans, C. C. 1996. Effect of foliar feeding of 'Hass' at various stages of flowering. *South African Avocado Growers' Association Yearbook* 19: 31-32.
- Maranto, J. 1989. Pollination and fruit set. *California Grower* 13(11): 37
- Martínez, D.; J. Cuevas; N. Lorente; y C. González. 1999. Selección de polinizadores para el cultivar de aguacate 'Hass' en la costa de Almería. VIII Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas. Murcia, España. pp. 132-137.
- Norton, J. D. 1966. Testing of plum pollen viability with tetrazolium salts. *American Society for Horticultural Science* 89: 132-134.

- Osuna E., T. 1982. Estudio de la diferenciación floral y la expresión de la dicogamia en la variedad 'Fuerte' de aguacate (*Persea americana* Mill.) en la región de Atlixco, Puebla. Tesis de maestría en Ciencias, Programa de Fruticultura, Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 89 p.
- Osuna E., T.; García V., A.; y E. Pimienta B. 1985. Expresión de la dicogamia en la variedad 'Fuerte' de aguacate (*Persea americana* Mill.) en la región de Atlixco, Puebla. *Agrociencia* 62: 69-77.
- Palazón, I.; C. Palazón; y R. Balduque. 1991. Pesticidas Aplicados en Floración y Polinización. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España. Folleto N° 9. 27 p.
- Papademetriou, K. M. 1975a. A Study of the viability of avocado pollen under natural conditions. *Calif. Avoc. Soc. Yrbk.* pp. 74-77.
- Papademetriou, K. M. 1975b. Pollen tube growth in avocados (*Persea americana* Mill.). *Calif. Avocado Soc. Yrbk.* pp. 99-102.
- Pimienta B., E. 1987. Polinización y Fecundación en frutales Perennes. Tema didáctico N° 4. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México. 27 p.
- Robbertze, P. J.; L. A. Coetzer; M. F. Smith; and W. Conradie. 1995. Effect of pollen parent on pollen tube growth in Hass avocado. *South African Avocado Growers' Yearbook* 18: 17-19.
- Robbertze, P. J.; M. F. Johannsmeier; and T. M. Morudu. 1998. Pollination of Hass avocados. *South African Avocado Growers' Yearbook* 21: 63-68.
- Rodríguez, S. F. 1982. El Aguacate. AGT Editor. D. F., México. 167 p.
- Sahar, N.; and P. Spiegel-Roy. 1984. *In vitro* germination of avocado pollen. *HortScience* 19(6): 886-888.

- Salazar G., S. 2000. Fisiología reproductiva del aguacate. pp. 55-83 *In*: El Aguacate y su Manejo Integrado. Téliz O., D. (Coordinador). Ediciones Mundi - Prensa, México, D.F.
- Sánchez C., S. 1987. Nuevas tecnologías en el cultivo del aguacate. Academia Mexicana de Ingeniería. Especialidad Ingeniería Agronómica. D. F., México. 61 p.
- Sánchez C., S.; G. Zapata A.; y E. Campos R. 1997. Producción Nacional de Aguacate y su Comercialización. Memorias de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C., Coatepec Harinas, México. pp. 17-24.
- Scholefield, P.B. 1982. A scanning electron microscope study of flowers of avocado, litchi, macadamia and mango. *Scientia Horticulturae* 16: 263-272.
- Schroeder, C. A. 1944. The avocado inflorescence. *Calif. Avocado Soc. Yrbk.* 30: 39-40.
- Schroeder, C. A. 1953. Some aspects of pollination in the avocado. *Calif. Avocado Soc. Yearbook* 38: 159-162.
- Schroeder, C. A. 1955. Pollen production in avocado. *Calif. Avocado Soc. Yearbook* 39: 184-186.
- Schroeder, C. A.; and R. Hofshi. 1998. Some aspects of pollination and fertilization in subtropical fruit species. *Subtropical Fruit News* 6(1): 2-5.
- Scora, R. W.; and B. O. Bergh. 1990. The origins and taxonomy of avocado (*Persea americana* Mill.). *Lauraceae. Acta Bot.* 275: 387-394.
- Scora R. W.; and B. O. Bergh. 1992. Origin and taxonomy relationships within the genus *Persea*. *Proc. of Second World Avocado Congress.* pp. 505-514.
- Sedgley, M. 1976. Control by embryosac over pollen tube growth in the style of the avocado (*Persea americana* Mill.). *New Phytol.* 77: 149-152.

Sedgley, M. 1977a. Reduced pollen tube growth and the presence of callosa in the pistil of the male floral stage of the avocado. *Scientia Horticulturae* 7: 27-36.

Sedgley, M. 1977b. The effect of temperature on floral behaviour, pollen tube growth and fruit set in the avocado. *J. Hort. Sci.* 52: 135-141.

Sedgley, M. 1979. Light microscope study of pollen tube growth, fertilisation, and early embryo and endosperm development in the avocado varieties Fuerte and Hass. *Ann. Bot.* 44: 353-359.

Sedgley, M. 1980. Anatomical investigation of abscised avocado flowers and fruitlets. *Ann. Bot.* 36: 771-777.

Sedgley, M. 1981. Storage of avocado pollen. *Euphytica* 30: 595-599.

Sedgley, M.; and C. M. Annells. 1981. Flowering and fruit set response to temperature in the avocado cv. 'Hass'. *Scientia Hort.* 14: 27-33.

Sedgley, M.; and W. J. R. Grant. 1983. Effect of low temperatures during flowering of floral cycle and pollen tube growth in nine avocado cultivars. *Scientia Hort.* 18: 207-213.

Sedgley, M. 1986. Reproductive Physiology. *Acta Hort.* 175: 71-77.

Sedgley, M. 1987. Flowering, pollination and fruit set of avocado. Programme and extended abstracts of Second World Avocado Congress. p. 14.

Sippel, A. D.; M. A. Holmes; N. J. F. Claassens; and V. Claassens. 1993. Analysis of 'Pinkerton' avocado fruit growth. *South African Avocado Growers' Association Yearbook* 16: 90-95.

Socias Y. C., R. 1987. La polinización de los Frutales. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Folleto Nº 18. 20 p.

- Steyn, E. M. A. 1993. Cryptically female flowers in 'Fuerte': fact or falacy?. South African Avocado Growers' Association Yearbook 16: 9-17.
- Stösser, R.; and S. F. Anvari. 1983. Pollen tube growth and fruit set as influenced by senescence of stigma, style and ovules. *Acta Horticulturae* 139: 13-19.
- Stout, A. B. 1923. A study in cross pollination of avocados on southern California. *California Avocado Assn. Yrbk.* 7: 29-45.
- Tomer, E.; and M. Gottreich. 1975. Observations on the fertilization proces in avocado with fluorescent light. *Euphytica* 24: 531-535.
- Tomer, E.; M. Gottreich; and S. Gazit. 1976. Defective ovules in avocado cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 101: 620-623.
- Tomer, E.; and M. Gottreich. 1978. Anormalities in avocado (*Persea americana* Mill.) ovule development. *Bot Gaz.* 139: 81-86.
- Visscher, K. P. 1997. Avocado pollination in California growing conditions. *California Avocado Research Symposium. California, USA.* pp. 43-44.
- Visscher, K. P.; and S. Gavin. 1998. Insect visitors to avocado flowers. *Subtropical Fruit* 6(1): 7-10.
- Werner, D. J.; and S. Chang. 1981. Stain testing viability in stored peach pollen. *HortScience* 16(4): 522-523.
- Welsh, J. R. 1981. Plant reproduction, pp. 69-100. *In: Fundamentals of Plant Genetics and Breeding. Chapter 6.*
- Zentmyer, G. A.; E. Schieber; and W. Popenoe. 1987. Early history of the avocado during the time of the conquistadores. *South African Avocado Growers' Assoc. Yrbk.* 10: 11-12.
- Zentmyer, G. A. 1991. The genus *Persea*. *Calif. Avocado Soc. Yrbk.* 75: 119-123.

7. ANEXOS

Anexo 1. Cuadrados medios de los análisis de varianza para cinco variables del desarrollo del tubo polínico en dos estados de apertura floral de 'Hass' (1998).

FV	GL	TGP	PGG	PE1	PE2	POV ^z
E	1	51.11 ^{NS}	3.50 ^{NS}	664.12 ^{NS}	51.66 ^{NS}	20.42 ^{NS}
Error	6	10.14	1.32	133.60	18.23	6.89
Total	7	15.99	1.63	209.39	23.01	8.82
CV		39.51	1.16	78.20	124.35	164.34

^{NS} No significativo ($P \leq 0.05$).

^z Observaciones realizadas con lacmoide.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TGP = granos de polen por estigma, PGG = granos germinados (%), PE1 = tubos polínicos en la parte superior del estilo (%), PE2 = tubos polínicos en la parte basal del estilo (%), POV = tubos polínicos en el ovario (%), E = estado de apertura floral y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 2. Cuadrados medios de los análisis de varianza para el porcentaje de flores con tubo polínico en el estigma, parte superior del estilo, parte basal del estilo y ovario en dos estados de apertura floral de 'Hass' (1998).

FV	GL	TPE	E1	E2	OVA ^z
Estado	1	450.00 ^{NS}	5512.50 [*]	4512.50 ^{NS}	1800.00 ^{NS}
Error	6	150.00	564.58	1145.83	600.00
Total	7	192.86	1271.43	1626.79	771.43
CV		13.24	45.26	128.95	163.30

^{NS} No significativo y ^{*} significativo ($P \leq 0.05$).

^z Observaciones realizadas con lacmoide.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TPE = flores con tubo polínico en el estigma (%), E1 = flores con tubo polínico en la parte superior del estilo (%), E2 = flores con tubo polínico en la parte basal del estilo (%), OVA = flores con tubo polínico en el ovario (%) y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 3. Cuadrados medios de los análisis de varianza para cinco variables del desarrollo del tubo polínico en diferentes estados de apertura floral de 'Hass' (1999).

FV	GL	TGP	PGG	PE1	PE2	POV
E	2	275.60 **	15.68 ^{NS}	10.60 ^{NS}	7.53 **	0 ^z
Error	6	23.80	8.18	12.02	0.63	0
Total	8	86.75	10.05	11.67	2.35	0
CV		25.52	2.95	27.50	79.37	0

^{NS} No significativo y ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

^z Observaciones realizadas con lacmoide.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TGP = granos de polen por estigma, PGG = granos germinados (%), PE1 = tubos polínicos en la parte superior del estilo (%), PE2 = tubos polínicos en la parte basal del estilo (%), POV = tubos polínicos en el ovario (%), E = estado de apertura floral y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 4. Cuadrados medios de los análisis de varianza para cinco variables del desarrollo del tubo polínico en diferentes estados de apertura floral de 'Fuerte' (1999).

FV	GL	TGP	PGG	PE1	PE2	POV ^z
E	2	264.53 *	67.54 ^{NS}	68.13 *	23.01 **	0.15 ^{NS}
Error	6	25.56	27.39	12.18	0.83	0.15
Total	8	85.31	37.43	26.17	6.38	0.15
CV		33.70	5.61	33.93	47.59	300.00

^{NS} No significativo, * significativo ($P \leq 0.05$) y ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

^z Observaciones realizadas con lacmoide.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TGP = granos de polen por estigma, PGG = granos germinados (%), PE1 = tubos polínicos en la parte superior del estilo (%), PE2 = tubos polínicos en la parte basal del estilo (%), POV = tubos polínicos en el ovario (%), E = estado de apertura floral y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 5. Cuadrados medios de los análisis de varianza para cinco variables del desarrollo del tubo polínico en diferentes estados de apertura floral de 'Colín V-33' (1999).

FV	GL	TGP	PGG	PE1	PE2	POV ^z
E	2	491.64 ^{NS}	5.33 ^{NS}	37.84 ^{NS}	15.03 **	0.01 ^{NS}
Error	6	108.25	2.86	35.75	0.27	0.01
Total	8	204.10	3.48	36.27	3.96	0.01
CV		57.98	1.73	32.90	37.73	300.00

^{NS} no significativo y ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

^z Observaciones realizadas con lacmoide.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TGP = granos de polen por estigma, PGG = granos germinados (%), PE1 = tubos polínicos en la parte superior del estilo (%), PE2 = tubos polínicos en la parte basal del estilo (%), POV = tubos polínicos en el ovario (%), E = estado de apertura floral y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 6. Cuadrados medios de los análisis de varianza para cinco variables del desarrollo del tubo polínico en diferentes estados de apertura floral de 'Hass' (1999).

FV	GL	TGP	PGG	PE1	PE2	POV ^z
E	2	1191.60 **	1258.86 ^{NS}	933.12 ^{NS}	77.76 **	43.99 **
Error	27	107.32	614.15	389.94	11.15	2.89
Total	29	182.09	658.62	427.40	15.74	5.72
CV		61.30	27.71	162.56	151.48	112.17

^{NS} no significativo, * significativo ($P \leq 0.05$) y ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

^z Observaciones realizadas en fluorescencia.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TGP = granos de polen por estigma, PGG = granos germinados (%), PE1 = tubos polínicos en la parte superior del estilo (%), PE2 = tubos polínicos en la parte basal del estilo (%), POV = tubos polínicos en el ovario (%), E = estado de apertura floral y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 7. Cuadrados medios de los análisis de varianza para cinco variables del desarrollo del tubo polínico en diferentes estados de apertura floral de 'Fuerte' (1999).

FV	GL	TGP	PGG	PE1	PE2	POV ^z
E	2	788.43 **	7453.40 **	1743.94 ^{NS}	112.69 *	52.34 *
Error	27	109.06	576.76	632.17	24.96	12.25
Total	29	155.91	1051.02	708.85	31.01	15.02
CV		79.52	28.66	100.27	147.08	244.34

^{NS} No significativo, * significativo ($P \leq 0.05$) y ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

^z Observaciones realizadas en fluorescencia.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TGP = granos de polen por estigma, PGG = granos germinados (%), PE1 = tubos polínicos en la parte superior del estilo (%), PE2 = tubos polínicos en la parte basal del estilo (%), POV = tubos polínicos en el ovario (%), E = estado de apertura floral y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 8. Cuadrados medios de los análisis de varianza para cinco variables del desarrollo del tubo polínico en diferentes estados de apertura floral de 'Colín V-33' (1999).

FV	GL	TGP	PGG	PE1	PE2	POV ^z
E	2	1448.10 **	3399.88 ^{NS}	1435.38 ^{NS}	392.91**	2.31**
Error	27	204.32	1109.23	545.86	34.11	0.40
Total	29	290.09	1267.21	607.21	58.85	0.53
CV		110.81	40.04	102.26	146.13	226.97

^{NS} No significativo, * significativo ($P \leq 0.05$) y ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

^z Observaciones realizadas en fluorescencia.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TGP = granos de polen por estigma, PGG = granos germinados (%), PE1 = tubos polínicos en la parte superior del estilo (%), PE2 = tubos polínicos en la parte basal del estilo (%), POV = tubos polínicos en el ovario (%), E = estado de apertura floral y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 9. Cuadrados medios de los análisis de varianza para el porcentaje de flores con tubo polínico en el estigma, parte superior del estilo, parte basal del estilo y ovario en diferentes estados de apertura floral de 'Hass' (1999).

FV	GL	TPE	E1	E2	OVA ^z
Estado	2	456.33 **	4258.33 **	5475.00 **	1033.33 *
Error	9	25.22	486.11	127.78	188.89
Total	11	103.61	1171.97	1100.00	342.42
CV		5.35	33.49	45.22	117.30

** Altamente significativo ($P \leq 0.01$) y * significativo ($P \leq 0.05$).

^z Observaciones realizadas en fluorescencia.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TPE = flores con tubo polínico en el estigma (%), E1 = flores con tubo polínico en la parte superior del estilo (%), E2 = flores con tubo polínico en la parte basal del estilo (%), OVA = flores con tubo polínico en el ovario (%) y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 10. Cuadrados medios de los análisis de varianza para el porcentaje de flores con tubo polínico en el estigma, parte superior del estilo, parte basal del estilo y ovario en diferentes estados de apertura floral de 'Fuerte' (1999).

FV	GL	TPE	E1	E2	OVA ^z
Estado	2	1633.33 **	6608.33 **	9202.08 **	758.33 ^{NS}
Error	9	100.00	350.00	246.53	375.00
Total	11	378.79	1487.88	1874.81	444.70
CV		11.32	27.38	42.34	211.25

** Altamente significativo ($P \leq 0.01$) y ^{NS} no significativo.

^z Observaciones realizadas en fluorescencia.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TPE = flores con tubo polínico en el estigma (%), E1 = flores con tubo polínico en la parte superior del estilo (%), E2 = flores con tubo polínico en la parte basal del estilo (%), OVA = flores con tubo polínico en el ovario (%) y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 11. Cuadrados medios de los análisis de varianza para el porcentaje de flores con tubo polínico en el estigma, parte superior del estilo, parte basal del estilo y ovario en diferentes estados de apertura floral de 'Colín V-33' (1999).

FV	GL	TPE	E1	E2	OVA ^z
Estado	2	514.58 ^{NS}	3158.33 *	8533.33 **	33.33 ^{NS}
Error	9	232.64	552.78	202.78	11.11
Total	11	283.90	1026.52	1717.42	15.15
CV		17.51	39.74	48.82	200.00

** Altamente significativo ($P \leq 0.01$), * significativo ($P \leq 0.05$) y ^{NS} no significativo.

^z Observaciones realizadas en fluorescencia.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TPE = flores con tubo polínico en el estigma (%), E1 = flores con tubo polínico en la parte superior del estilo (%), E2 = flores con tubo polínico en la parte basal del estilo (%), OVA = flores con tubo polínico en el ovario (%) y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 12. Temperaturas medias y extremas diarias y porcentajes de humedad relativa en el huerto de aguacatero del Rancho "La Cruz", ubicado en Coatepec Harinas, Estado de México (1998).

Día	Temperatura				Humedad Relativa			
	MD ^z	Máxima	MN ^y	Mínima	MD	Mínima	MN	Máxima
01/03/98	19.22	24.77	10.09	4.21	8.89	3.00	17.58	22.89
02/03/98	19.33	24.57	10.60	6.30	9.78	4.59	17.91	31.20
03/03/98	19.10	23.90	10.08	4.50	15.62	10.89	19.21	26.89
04/03/98	19.39	24.50	9.68	6.57	26.17	13.50	36.25	55.50
05/03/98	19.82	25.39	10.32	6.21	32.09	24.00	38.88	55.70
06/03/98	21.72	26.63	11.68	8.32	22.00	10.00	49.04	58.29
07/03/98	19.88	29.27	12.22	8.97	23.88	11.69	30.23	44.40
08/03/98	17.07	19.87	16.94	16.39	30.69	29.39	26.39	29.20
09/03/98	19.64	20.30	21.96	19.61	26.31	26.10	28.30	31.50
10/03/98	20.22	20.70	21.03	20.30	28.69	27.10	26.83	27.10
11/03/98	19.12	19.98	20.6	19.98	34.97	29.79	30.30	30.60
12/03/98	18.74	18.94	18.88	18.57	39.57	35.79	36.84	37.79
13/03/98	20.34	28.92	20.01	18.82	33.92	29.00	37.89	43.40
14/03/98	22.68	24.23	22.14	20.75	31.03	26.39	32.28	34.40
15/03/98	23.17	24.37	23.50	22.76	29.65	27.89	28.28	30.10

^z Lecturas medias diarias tomadas desde el amanecer hasta la puesta del sol.

^y Lecturas medias nocturnas tomadas desde la puesta del sol hasta el amanecer.

Anexo 13. Temperaturas medias y extremas diarias y porcentajes de humedad relativa en el huerto de aguacatero del Rancho "La Cruz", ubicado en Coatepec Harinas, Estado de México (1999).

Día	Temperatura				Humedad Relativa			
	MD ^z	Máxima	MN ^y	Mínima	MD	Mínima	MN	Máxima
21/01/99	17.85	21.49	9.89	7.03	39.32	29.10	61.59	73.30
22/01/99	18.16	21.67	9.50	5.36	34.31	24.60	53.87	64.30
23/01/99	17.47	22.53	8.32	5.85	30.94	10.69	56.88	63.29
24/01/99	14.95	19.74	8.23	0.69	19.92	13.00	19.50	34.20
25/01/99	17.00	21.20	7.57	4.69	38.43	17.00	48.50	71.30
26/01/99	18.81	22.41	8.96	5.56	32.57	18.79	60.55	73.19
27/01/99	18.83	22.71	9.61	6.68	38.64	30.00	67.09	52.12
28/01/99	18.85	22.78	11.12	8.15	45.08	32.40	70.49	77.09
29/01/99	19.19	23.48	10.60	7.86	39.07	28.89	56.75	10.60
30/01/99	19.76	23.43	10.86	8.81	37.30	27.39	54.30	60.40
31/01/99	17.46	21.61	11.44	7.45	51.75	40.40	65.61	83.40
01/02/99	19.33	23.82	11.23	8.30	54.31	37.59	79.36	93.50
02/02/99	20.32	25.05	11.92	8.48	46.39	32.79	71.04	83.19
03/02/99	17.72	24.02	13.11	9.09	64.53	43.00	74.80	91.19
04/02/99	20.34	24.02	11.25	8.72	42.58	27.39	80.65	87.59
05/02/99	18.10	21.67	12.49	8.12	46.61	24.39	66.84	85.69
06/02/99	18.41	22.53	9.95	7.32	57.99	43.00	75.03	96.30
07/02/99	19.78	23.55	11.62	8.27	50.32	37.70	77.01	85.69
08/02/99	19.80	23.69	11.93	8.21	47.96	33.70	72.37	82.09
09/02/99	20.59	24.63	11.88	8.57	42.37	29.5	69.03	78.90
10/02/99	19.39	22.91	12.23	8.60	53.62	42.90	75.76	86.59
11/02/99	19.79	24.56	11.74	8.45	47.24	32.79	70.73	79.00
12/02/99	17.66	21.26	9.69	7.04	49.98	38.7	70.39	79.50
13/02/99	12.86	16.05	8.90	4.68	65.80	53.20	83.47	99.09
14/02/99	14.32	19.47	5.76	2.32	51.05	19.50	90.71	99.69
15/02/99	18.26	21.85	6.15	4.58	35.77	26.29	66.83	71.19
16/02/99	18.67	22.53	9.02	6.36	36.30	24.70	63.69	69.59

Continuación...

17/02/99	18.79	22.71	9.51	6.41	35.80	25.39	58.00	67.40
18/02/99	18.92	22.46	9.56	5.86	35.34	23.89	63.78	78.19
19/02/99	19.59	23.10	9.55	7.18	35.56	22.79	61.99	72.69
20/02/99	20.94	24.84	11.03	7.49	33.63	23.79	56.36	69.50
21/02/99	20.28	23.69	11.26	7.90	29.66	24.88	53.88	64.90
22/02/99	19.65	24.43	10.26	6.18	45.82	33.90	75.14	91.19
23/02/99	20.69	24.63	11.40	8.16	38.71	27.79	65.02	73.19
24/02/99	19.30	23.04	11.92	7.55	27.14	15.39	52.20	58.50
25/02/99	20.47	24.84	9.91	6.24	31.86	15.89	48.74	65.59
26/02/99	20.11	24.02	11.89	7.90	40.03	27.89	60.07	76.30
27/02/99	20.50	24.23	11.97	8.25	38.72	28.39	60.28	69.69
28/02/99	20.94	15.87	12.39	9.56	38.96	51.09	59.92	75.09
01/03/99	21.10	24.29	12.41	8.94	40.40	30.10	66.53	85.30
02/03/99	20.91	24.23	12.57	8.73	35.46	27.00	56.37	67.90

^z Lecturas medias diarias tomadas desde el amanecer hasta la puesta del sol.

^y Lecturas medias nocturnas tomadas desde la puesta del sol hasta el amanecer.

Anexo 14. Cuadrados medios de los análisis de varianza para amarre inicial de frutos provenientes de autopolinización en dos estados de apertura floral de 'Hass' (1998).

FV	GL	PAIF
E	1	34.74 ^{NS}
Error	6	8.79
Total	7	12.50
CV		24.54

^{NS} No significativo.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, PAIF = amarre inicial de fruto (%), E = estado de apertura floral y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 15. Cuadrados medios de los análisis de varianza para amarre de frutos provenientes de polinización cruzada en diferentes estados de apertura floral de 'Hass' (1999).

FV	GL	PAIF1	PAIF2
E	2	2378.68 **	156.46 **
Error	9	191.05	10.81
Total	11	588.80	37.29
CV		51.30	91.06

** Altamente significativo ($P \leq 0.01$).

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, PAIF1 = amarre de fruto un mes después de la polinización (%), PAIF2 = amarre de fruto dos meses después de la polinización (%), E = estado de apertura floral y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 16. Cuadrados medios de los análisis de varianza para amarre de frutos provenientes de polinización cruzada en diferentes estados de apertura floral de 'Fuerte' (1999).

FV	GL	PAIF1	PAIF2
E	2	1008.15 **	133.33 **
Error	9	55.24	9.89
Total	11	228.50	32.33
CV		81.09	94.33

** Altamente significativo ($P \leq 0.01$).

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, PAIF1 = amarre de fruto un mes después de la polinización (%), PAIF2 = amarre de fruto dos meses después de la polinización (%), E = estado de apertura floral y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 17. Cuadrados medios de los análisis de varianza para amarre de frutos provenientes de polinización cruzada en diferentes estados de apertura floral de 'Colín V-33' (1999).

FV	GL	PAIF1	PAIF2
E	2	337.10 **	14.81 *
Error	9	16.04	2.47
Total	11	74.41	4.71
CV		65.54	141.53

** Altamente significativo ($P \leq 0.01$) y * significativo ($P \leq 0.05$).

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, PAIF1 = amarre de fruto un mes después de la polinización (%), PAIF2 = amarre de fruto dos meses después de la polinización (%), E = estado de apertura floral y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 18. Cuadrados medios de los análisis de varianza para número de granos de polen sobre el estigma, porcentaje de granos germinados y porcentaje de tubos polínicos en la parte superior y basal del estilo de flores en estado femenino de aguacatero 'Hass' bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada.

FV	GL	NG	PGG	PE1	PE2
TP	1	376.83 *	6.28 ^{NS}	187.49 ^{NS}	1.37 ^{NS}
Error	4	31.07	36.68	103.19	3.67
Total	5	100.22	30.60	120.05	3.21

CV		28.05	6.53	63.09	66.36
----	--	-------	------	-------	-------

^{NS} No significativo y * significativo ($P \leq 0.05$).

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, NG = granos de polen por estigma, PGG = porcentaje de granos germinados, PE1 = porcentaje de tubos polínicos en la parte superior del estilo, PE2 = porcentaje de tubos polínicos en la parte basal del estilo, TP = tipo de polinización y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 19. Cuadrados medios del análisis de varianza para porcentaje de tubos polínicos en el ovario de flores en estado femenino de aguacatero 'Hass' bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada.

FV	GL	Tubos polínicos en el ovario (%) ^z
TP	1	20.72 ^{NS}
Error	18	9.23
Total	19	9.83

CV		105.60
----	--	--------

^{NS} No significativo ($P \leq 0.05$).

^z Datos obtenidos de una muestra de 10 flores observadas en fluorescencia.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TP = tipo de polinización y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 20. Cuadrados medios de los análisis de varianza para número de granos de polen sobre el estigma, porcentaje de granos germinados y porcentaje de tubos polínicos en la parte superior y basal del estilo de flores en estado femenino de aguacatero 'Fuerte' bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada.

FV	GL	NG	PGG	PE1	PE2
TP	1	541.50 *	11.87 ^{NS}	43.31 ^{NS}	4.63 ^{NS}
Error	4	68.78	3.61	13.09	1.91
Total	5	163.33	5.26	19.13	2.46
CV		25.60	1.95	40.53	40.46

^{NS} No significativo y * significativo ($P \leq 0.05$).

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, NG = granos de polen por estigma, PGG = porcentaje de granos germinados, PE1 = porcentaje de tubos polínicos en la parte superior del estilo, PE2 = porcentaje de tubos polínicos en la parte basal del estilo, TP = tipo de polinización y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 21. Cuadrados medios del análisis de varianza para porcentaje de tubos polínicos en el ovario de flores en estado femenino de aguacatero 'Fuerte' bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada.

FV	GL	Tubos polínicos en el ovario (%) ^z
TP	1	0.49 ^{NS}
Error	18	10.44
Total	19	9.92
CV		106.74

^{NS} No significativo ($P \leq 0.05$).

^z Datos obtenidos de una muestra de 10 flores observadas en fluorescencia.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TP = tipo de polinización y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 22. Cuadrados medios de los análisis de varianza para número de granos de polen sobre el estigma, porcentaje de granos germinados y porcentaje de tubos polínicos en la parte superior y basal del estilo de flores en estado femenino de aguacatero 'Colín V-33' bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada.

FV	GL	NG	PGG	PE1	PE2
TP	1	104.17 ^{NS}	4.40 ^{NS}	45.87 ^{NS}	0.008 ^{NS}
Error	4	192.65	2.12	16.76	4.203
Total	5	174.95	2.58	22.58	3.364
CV		40.98	1.53	20.80	53.250

^{NS} No significativo ($P \leq 0.05$).

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, NG = granos de polen por estigma, PGG = porcentaje de granos germinados, PE1 = porcentaje de tubos polínicos en la parte superior del estilo, PE2 = porcentaje de tubos polínicos en la parte basal del estilo, TP = tipo de polinización y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 23. Cuadrados medios del análisis de varianza para porcentaje de tubos polínicos en el ovario de flores en estado femenino de aguacatero 'Colín V-33' bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada.

FV	GL	Tubos polínicos en el ovario (%) ^z
TP	1	1.02 ^{NS}
Error	18	0.88
Total	19	0.89
CV		161.57

^{NS} No significativo ($P \leq 0.05$).

^z Datos obtenidos de una muestra de 10 flores observadas en fluorescencia.

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, TP = tipo de polinización y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 24. Cuadros medios de los análisis de varianza para número de granos de polen por estigma y porcentaje de flores en estado femenino con tubo polínico en el estigma, parte superior e inferior del estilo y ovario bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada en el aguacatero 'Hass' (1999).

FV	GL	NG	Porcentaje de flores con tubo polínico en:			
			Estigma	E1	E2	OVA
TP	1	345.19**	0	612.50 ^{NS}	1653.13**	1250.00*
Error	6	21.79	0	145.83	90.63	116.67
Total	7	67.99	0	212.50	313.84	278.57
CV		23.90	0	13.61	15.39	22.74

^{NS} No significativo, * significativo ($P \leq 0.05$) y ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, NG = número de granos de polen por estigma, E1 = parte superior del estilo, E2 = parte basal del estilo, OVA = ovario, TP = tipo de polinización y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 25. Cuadros medios de los análisis de varianza para número de granos de polen por estigma y porcentaje de flores en estado femenino con tubo polínico en el estigma, parte superior e inferior del estilo y ovario bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada en el aguacatero 'Fuerte' (1999).

FV	GL	NG	Porcentaje de flores con tubo polínico en:			
			Estigma	E1	E2	OVA
TP	1	315.01 ^{NS}	0	50.00 ^{NS}	1512.50*	200.00 ^{NS}
Error	6	115.02	0	50.00	145.83	91.67
Total	7	143.59	0	50.00	341.07	107.14
CV		36.02	0	7.25	15.84	22.53

^{NS} No significativo y * significativo ($P \leq 0.05$).

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, NG = número de granos de polen por estigma, E1 = parte superior del estilo, E2 = parte basal del estilo, OVA = ovario, TP = tipo de polinización y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 26. Cuadrados medios de los análisis de varianza para número de granos de polen por estigma y porcentaje de flores en estado femenino con tubo polínico en el estigma, parte superior e inferior del estilo y ovario, bajo condiciones de autopolinización y polinización cruzada en el aguacatero 'Colín V-33' (1999).

FV	GL	NG	Porcentaje de flores con tubo polínico en:			
			Estigma	E1	E2	OVA
TP	1	13.52 ^{NS}	0	24.50 ^{NS}	1512.50*	612.50*
Error	6	68.80	0	24.50	262.50	95.83
Total	7	60.90	0	24.50	441.07	169.64
C V		25.86	0	5.04	19.94	37.29

^{NS} No significativo y * significativo ($P \leq 0.05$).

FV = Fuente de variación, GL = grados de libertad, NG = número de granos de polen por estigma, E1 = parte superior del estilo, E2 = parte basal del estilo, OVA = ovario, TP = tipo de polinización y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 27. Temperaturas y humedades relativas diurnas y nocturnas durante el período de Autopolinización y polinización cruzada de tres cultivares de aguacatero, Coatepec Harinas, México.

'Hass'	Temperatura (° C)		Humedad relativa (%)	
	Noche	Día	Noche	Día
20.1.99	10.4		60.6	
21.1.99	9.4	19.1	53.8	35.4
22.1.99	8.5	19.0	56.4	32.8
23.1.99		18.3		30.0
Promedio	9.4	18.8	56.9	32.7
'Fuerte'				
22.1.99	8.5	19.0	56.4	32.8
23.1.99	8.1	18.3	20.1	30.0
24.1.99	7.7	15.9	49.0	38.4
25.1.99	9.1	17.9	60.2	36.1
26.1.99	9.5	19.6	52.7	30.6
Promedio	8.6	18.1	47.7	33.6
'Colín V-33'				
28.1.99	10.8	19.6	56.7	42.8
29.1.99	11.0	20.0	54.3	37.0
30.1.99	11.5	20.7	65.6	35.6
31.1.99	11.4	18.1	78.8	49.7
1.2.99	12.0	20.1	70.7	51.8
2.2.99	13.1	21.1	75.3	44.1
Promedio	11.6	19.9	66.9	43.5

Anexo 28. Cuadrados medios de los análisis de varianza para amarre inicial de frutos provenientes de autopolinización, polinización cruzada y polinización libre de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33' durante el período de floración de invierno de 1999.

FV	GL	AIF (%)
C	2	1733.333 **
TP	2	6282.813 **
C x TP	4	200.521 *
Error	27	60.012
Total	35	527.277
CV		25.30

* significativo ($P \leq 0.05$) y ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

FV = fuente de variación, GL = grados de libertad, AIF = amarre inicial de fruto, C = cultivar, TP = tipo de polinización y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 29. Cuadrados medios de los análisis de varianza para amarre inicial de fruto provenientes de autopolinización y polinización cruzada durante dos años de floración de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'.

FV	GL	AIF (%)
A	1	11718.750 **
C	2	1835.547 **
TP	1	379.688 NS
A x C	2	706.640 **
A x TP	1	275.520 NS
C x TP	2	84.766 NS
A x C x TP	2	47.005 NS
Error	36	96.962
Total	47	74.269
CV		34.25

NS no significativo, * significativo ($P \leq 0.05$) y ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

FV = fuente de variación, GL = grados de libertad, AIF = amarre inicial de fruto, A = año, C = cultivar, TP = tipo de polinización y CV = coeficiente de variación (%).

Anexo 30. Cuadrados medios de los análisis de varianza para número de granos de polen por estigma y porcentaje de flores con tubo polínico en el estigma y parte superior del estilo provenientes de inflorescencias embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'.

FV	GL	NG	Flores con tubo polínico en:	
			Estigma	Parte superior del estilo
A	1	0.06 ^{NS}	37.63 ^{NS}	0
C	2	0.13 ^{NS}	5.60 ^{NS}	0
E	1	0.05 ^{NS}	22.01 ^{NS}	0
B	3	0.19 *	37.63 *	0
A x C	2	0.01 ^{NS}	5.60 ^{NS}	0
A x E	1	0.05 ^{NS}	22.00 ^{NS}	0
C x E	2	0.01 ^{NS}	0.91 ^{NS}	0
A x C x E	2	0.01 ^{NS}	0.91 ^{NS}	0
Error	33	0.02	9.80	0
Total	47	0.02	11.57	0
CV		387.58	353.37	0

^{NS} no significativo y * significativo ($P \leq 0.05$).

FV = Fuente de variación, GL = Grados de libertad, NG = Número de granos de polen sobre el estigma, A = Año, C = cultivar, E = estado, B = bloque y CV = Coeficiente de variación (%).

Anexo 31. Cuadrados medios de los análisis de varianza para amarre de fruto en inflorescencias embolsadas de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'.

FV	GL	Frutos	
		(No.)	(%)
Fecha	5	12.982 **	21470.399 **
Cultivar	2	16.140 **	2890.745 **
Bloque	3	0.994 ^{NS}	2.664 ^{NS}
Fecha x cultivar	10	6.553 **	2232.185 **
Error	51	0.710	24.339
Total	71	2.843	1925.417
CV		12.48	15.95

^{NS} no significativo y ** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

FV = Fuente de variación, GL = Grados de libertad y CV = Coeficiente de variación (%).

Anexo 32. Cuadrados medios de los análisis de varianza para viabilidad del polen de los aguacateros 'Hass', 'Fuerte' y 'Colín V-33'.

FV	GL	Granos de polen viables (%)
F	2	225.25 **
C	2	401.43 **
F x C	4	218.56 **
Error	45	40.15
Total	53	74.23
CV		8.63

** altamente significativo ($P \leq 0.01$).

FV = Fuente de variación, GL = Grados de libertad, F = fecha de evaluación, C = cultivar y CV = Coeficiente de variación (%).

Anexo 33. Cuadrados medios de los análisis de varianza para número de granos de polen por antera en tres cultivares de aguacatero.

FV	GL	Granos de polen por antera (No.)
Cultivar	2	148053.1**
Error	27	13713.8
Total	29	22978.58
CV	11.56	

** Diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$).

FV = Fuente de variación, GL = Grados de libertad y CV = Coeficiente de variación (%).