

Cuajado de frutos en tangor ‘Ortanique’ en respuesta a la polinización y a distintas situaciones de estrés ambiental

Borges, A.¹; Da Cunha Barros, M.²; Pardo, E.¹; García, M.³; Franco, J.¹; Gravina, A.²

¹Departamento de Biometría, Estadística y Cómputo. Facultad de Agronomía. Av. Garzón 780. Universidad de la República. Correo electrónico: aborges@fagro.edu.uy. Montevideo, Uruguay.

² Departamento de Producción Vegetal. Facultad de Agronomía.

³ Departamento de Suelos y Aguas. Facultad de Agronomía.

Recibido: 5/5/09 Aceptado: 21/8/09

Resumen

Se estudió el efecto de factores de estrés ambiental y la polinización, en el cuajado final de frutos del tangor ‘Ortanique’, variedad autoincompatible. Se evaluó el sombreado de los árboles (M: mallas 35 % sombra y SM: sin malla) y del riego (SR: secano y R: riego localizado en la fila) en condiciones de campo. Desde floración hasta fin de caída fisiológica, se cuantificó el cuajado de frutos. Adicionalmente, en cada una de las cuatro situaciones, se marcaron 120 brotes terminales y se aplicaron tres tratamientos: a) control, b) emasculado y embolsado de flores y c) emasculado de flores y polinización con polen de mandarina ‘Nova’. Se registró periódicamente el potencial hídrico foliar y xilemático (ψ_F y ψ_X) y en dos fechas la conductancia estomática (g_s) y temperatura de hoja (TH). Los árboles bajo malla presentaron mayor cuajado de frutos (0,52 % M vs. 0,21 % SM), mientras que los niveles de riego no tuvieron efecto significativo. La proporción de frutos cuajados mostró una correlación significativa y negativa con la TH y positiva con el ψ_F y la g_s . En condiciones de sombreado la polinización artificial incrementó en forma significativa el porcentaje de cuajado. Las flores ‘control’ presentaron mayor porcentaje de cuajado que las flores emasculadas, lo que sugiere que esta variedad presenta partenocarpia de tipo estimulativa. Se discuten estos resultados y su implicancia sobre la productividad de este cultivar.

Palabras clave: abscisión; *Citrus*; déficit hídrico; estrés térmico; partenocarpia

Summary

Fruit set in ‘Ortanique’ tangor in response to pollination and different environmental stress situations

Environmental stress factors and pollination effects on final fruit set of self-incompatible ‘Ortanique’ tangor were studied. Two factors were evaluated: ‘shading’ (‘M’: 35 % flat shade nets and ‘SM’: without shading) and ‘irrigation’ (‘SR’: no irrigation and ‘R’: drip irrigation) under field conditions. From full bloom to the end of physiological drop, fruit set was evaluated. Additionally, in each situation, 120 leafy single flowered shoots were tagged, and three treatments were applied: a) control; b) emasculated and bagged flowers; and c) emasculated and hand pollinated flowers with ‘Nova’ mandarin. Leaf and stem water potential (ψ_F and ψ_X) were measured periodically and stomatal conductance (g_s) and leaf temperature (TH) in two dates. Shaded trees registered significantly higher final fruit set (0.52 % M vs. 0.21 % SM), while irrigation treatments had no significant effect. Fruit set proportion showed a significant and negative correlation with TH and positive with ψ_F and ψ_X and g_s . Under shaded conditions, hand pollination significantly increased fruit set percentage. Control had higher final fruit set than emasculated treatment, suggesting that this cultivar presents stimulative parthenocarpy. Results and their implications over productivity of this cultivar are discussed.

Key words: abscission; *Citrus*; heat stress; parthenocarpy; water deficit

Introducción

El cuajado de frutos comprende una serie de eventos a nivel celular y de desarrollo y en sentido amplio, incluye todo el período durante el cual los frutos pueden sufrir abscisión. Este período comprende la transición de ovario a fruto, que se inicia poco después de la floración, con el crecimiento del fruto por división celular y concluye definitivamente al finalizar la caída fisiológica de frutos, aproximadamente 90 días después de antesis (Talón, 1997). La posibilidad de cuajar de un fruto está determinada por distintos mecanismos de control, tanto endógenos como exógenos. Dentro de los primeros, las características varietales y los factores fisiológicos, en particular los nutricionales y hormonales, son los principales reguladores de este proceso. Agustí *et al.* (2003) plantean que los factores nutricionales refieren a la disponibilidad de carbohidratos en la planta, mientras que los factores hormonales tienen que ver con la capacidad fosa de los frutos, los cuales determinan la 'habilidad' para competir por esos carbohidratos. En una primera etapa, el éxito en el cuajado de frutos se ha relacionado más con aspectos hormonales, fundamentalmente los niveles endógenos de giberelinas (Talón *et al.*, 1999). En una segunda etapa, finalizado el cuajado inicial, el cuajado de frutos está determinado por la disponibilidad de carbohidratos provenientes de las reservas o de la fotosíntesis actual (Iglesias *et al.*, 2003; Rivas *et al.*, 2006, 2007), constituyendo así un mecanismo autorregulado que ajusta el número de frutos a la capacidad del árbol de suministrar metabolitos (Goldschmidt y Monselise, 1977; Guardiola, 1988; Rivas *et al.*, 2007).

El cuajado de los frutos puede ser consecuencia de la polinización y fecundación o de la habilidad partenocárpica de la variedad, produciendo frutos sin semillas. En cualquier caso, el cuajado de frutos es dependiente de una o más señales de crecimiento (reguladores del desarrollo) después de la antesis (Gillaspy *et al.*, 1993). Estos autores plantean que el polen produce estímulos positivos de crecimiento, en particular hormonas tales como auxinas y giberelinas. Las giberelinas producidas por el polen podrían tener un rol en el aumento de la producción de auxinas en el ovario, las que a su vez estarían actuando como señal para la reactivación de la división celular y por tanto para el cuajado inicial. En varias especies se ha constatado la presencia de giberelinas en los tubos polínicos y estos promotores de crecimiento podrían moverse hasta el óvulo, estimulando su crecimiento (Herrero, 1992).

En el caso de variedades autoincompatibles, si no son polinizadas por variedades compatibles, éstas producen frutos sin semillas. Las causas de la autoincompatibilidad pueden variar según cultivares y las más frecuentes en los cítricos pueden ser la esterilidad gamética masculina o femenina y la esterilidad homogamética gametofítica (Iglesias *et al.*, 2007). En algunas variedades autoincompatibles, se ha observado que la polinización con polen de la propia variedad, mejora el cuajado de frutos (Mesejo *et al.*, 2004), sugiriendo una partenocarpia estimulada.

Con respecto a los factores exógenos que regulan este proceso, las condiciones de alta temperatura y radiación (Talón *et al.*, 1999) y/o el estrés hídrico (Bower, 2000) son los principales factores del clima promotores de la abscisión. Los cítricos tienen una tasa de asimilación neta de CO_2 (A_c) relativamente baja con respecto a otros frutales ($7\text{-}10 \mu\text{moles de CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y un punto de saturación también bajo, en el rango de 700 a $900 \mu\text{moles fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Blanke, 2000), aproximadamente un tercio de la luz total (Syvertsen *et al.*, 2003). En ambientes de alta luminosidad la temperatura de hoja se puede elevar hasta 9°C por encima de la temperatura del aire y esto provoca un aumento en el déficit de presión de vapor (hoja-aire), que resulta en una disminución de la g_s y de A_c (Syvertsen *et al.*, 2003). Condiciones de alta radiación, en presencia de algún otro factor de estrés (ej. estrés hídrico), pueden dar lugar al proceso de fotoinhibición, esto es la disminución en la fotosíntesis por luz (Blanke, 2000). En este sentido, algunos estudios realizados en cítricos que incluyen el uso de mallas sombra han mejorado las condiciones de las plantas a través de una reducción de la temperatura de hoja (TH) y el déficit de presión de vapor y un aumento de la g_s y la tasa de asimilación neta (Jifon y Syvertsen, 2003; Raveh *et al.*, 2003, Syvertsen *et al.*, 2003).

Un estrés hídrico en la etapa de cuajado puede provocar fuerte abscisión de frutos (González-Altozano y Castel, 1999). En respuesta al estrés, se acumula ácido abscísico (ABA) y de 1-aminociclopropano-1-ácido carboxílico (ACC) en raíces (Gómez-Cadenas *et al.*, 1996) y en frutos (Kobashi *et al.*, 2000), señal primaria de respuesta al estrés hídrico, que a su vez modula los niveles de etileno, activador hormonal de la abscisión (Gómez-Cadenas *et al.*, 1996). También frente a condiciones de déficit hídrico se reporta reducción en la capacidad fotosintética, g_s y transpiración y un ψ_f más negativo (Bower, 2000; Kobashi *et al.*, 2000).

El tangor 'Ortanique' es una variedad autoincompatible (Soler, 1999). Si bien no se conoce con exactitud cual es el mecanismo genético de esterilidad, se sugiere el de la esterilidad homogenética gametofítica (más frecuente en frutales), por no presentar esterilidad gamética ni citológica. A nivel nacional, se la ha reportado como de comportamiento improductivo, presentando altas floraciones y bajo cuajado (Arias *et al.*, 1996; Espino *et al.*, 2005). Sin embargo, en condiciones de libre polinización con otras variedades compatibles, se ha reportado buen rendimiento (Carrau *et al.*, 1993).

Ensayos de evaluación del comportamiento productivo en 'Ortanique' en distintas zonas de Uruguay, registraron altas intensidades de floración (169 a 184 flores cada 100 nudos) y bajos porcentajes de cuajado (entre 0,08 y 0,1 %), pero aún en condiciones de baja floración (33 flores cada 100 nudos) el cuajado final fue de 0,5 % (datos no publicados). Adicionalmente, datos de la última encuesta citrícola (MGAP, 2008) indican un rendimiento promedio bajo, de 15 t ha⁻¹, con un 74 % de la superficie total regada. A partir de esta información se considera trascendente determinar los principales factores que limitan el cuajado, como base para el desarrollo de técnicas de manejo que permitan incrementar su rendimiento.

En base a los antecedentes presentados previamente, las principales hipótesis que sostienen este trabajo son: condiciones de estrés hídrico y/o térmico-lumínico reducen el cuajado final de 'Ortanique'; la polinización con polen de una variedad compatible mejora el cuajado de frutos y bajo estas condiciones de estrés ambiental, las diferencias en cuajado entre flores polinizadas y no polinizadas se tornarán más evidentes.

El objetivo de este trabajo fue determinar el impacto de diferentes regímenes térmico-lumínicos e hídricos y de la polinización y fecundación, en el cuajado de frutos de 'Ortanique'.

Materiales y métodos

Material vegetal y diseño experimental

El ensayo se realizó en un predio comercial ubicado en la localidad de Punta Espinillo, en el departamento de Montevideo, Uruguay (35° LS), durante el ciclo productivo 2005-2006. Se utilizaron plantas de tangor 'Ortanique' (*Citrus sinensis* L. Osb. x *C. reticulata* Bl.) de 22 años de edad, injertadas sobre *Poncirus trifoliata* (L. Raf.) a una densidad de 800 plantas/ha.

Con el objetivo de simular distintas condiciones en las plantas, se evaluaron dos factores: sombra y riego.

Para el primer factor se dividió el ensayo en dos experimentos: uno bajo malla sombra (M) y otro testigo sin cobertura (SM). Para el sombreado de los árboles se utilizó malla de polietileno negro (35 % sombra), colocada 1 m por encima de la copa de los árboles en una estructura horizontal (Figura 1).

Dentro de cada una de estos experimentos, en un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, se asignaron los dos niveles del factor riego: sin riego (SR) y riego localizado utilizado en la quinta (R), generándose por tanto, cuatro condiciones distintas: con sombra y riego (MR); con sombra y sin riego (MSR), sin sombra y con riego (SMR) y sin sombra y sin riego (SMSR). Las unidades experimentales fueron parcelas compuestas de 7 árboles, utilizándose los 3 centrales de cada una para las evaluaciones.



Figura 1. Árboles cubiertos con malla colocada en estructura horizontal.

Evaluación de cuajado

En los tres árboles centrales de cada parcela se marcaron un total de 8 ramas, conteniendo al menos 300 nudos cada una, todas de alta intensidad de floración (promedio 111 flores cada 100 nudos). En plena floración (50% flor abierta) se evaluó intensidad de brotación y floración (número de brotes y flores cada 100 nudos) y distribución de la brotación según tipo de brote. Semanalmente desde 40 días post-floración hasta fin de caída fisiológica, se registró la abscisión de frutos por rama y se determinó el porcentaje de cuajado final.

Variables fisiológicas

Para la estimación del grado de estrés de las plantas se registraron las siguientes variables fisiológicas:

Potencial hídrico (ψ): Semanalmente se midió el potencial hídrico foliar (ψ_F), utilizando una cámara de presión marca Soilmoisture modelo 3005-1412, en seis hojas en cada condición, siguiendo los procedimientos descritos por Scholander *et al.* (1965). Las mediciones se hicieron a primera hora de la mañana (7:00 hs; ψ_{Fm}), al mediodía (12:00 hs; ψ_{Fmc}) y lo que se consideró máxima demanda atmosférica (14:00 hs; ψ_{Ft}). A las mismas horas, también se midió el potencial hídrico xilemático (ψ_X), en seis hojas por condición, cubriendo las hojas media hora antes de la medición, con un film plástico y sobre éste uno de aluminio (Shackel, 2001).

A partir de los datos de ψ_F y ψ_X , obtenidos en los diferentes momentos del día, se calculó el integral de estrés ($S_{\psi F}$) y ($S_{\psi X}$) el cuál expresa la intensidad y duración del estrés y es la suma de ψ diario durante cierto período (Myers, 1988). Es estimado para 't' medidas de ψ en intervalos de 'n' días, usando la siguiente fórmula:

$$S_{\psi} = \left| \sum_{i=0}^{i=t} (\bar{\psi}_{i,i+1} - c)n \right|$$

donde:

$\bar{\psi}_{i,i+1}$ es la media de ψ para cada intervalo $i,i+1$, y 'c' es el valor máximo de ψ medido durante el ensayo para cada momento del día.

Conductancia estomática (g_s): Simultáneamente a la medida de potencial hídrico, en los mismos árboles y horas del día, se midió la g_s , en seis hojas por árbol, de la parte exterior de la copa, mediante un porómetro DELTA-T, modelo AP-4. Las medidas se realizaron el 5/12/05 y 15/12/05.

Temperatura de hoja (TH): Se registró la temperatura de hoja por medio de un sensor laser AYTEK-MiniTemp FS. Las medidas se realizaron en la mañana y en la tarde, en doce hojas por tratamiento, de la parte exterior de la copa. Las mediciones se realizaron en 29/12/05 y 4/01/06.

Temperatura y humedad relativa ambiente: Se colocaron dos sensores automáticos de temperatura y humedad HOBO, con capacidad para registro de datos cada 30 minutos, uno por experimento (con y sin cobertura de malla), situados en la canopia de los árboles, a una altura de 1.3 metros y a una profundidad aproximada de 40 cm. Se calculó la diferencia de temperatura hoja-aire ($DT = T^{\circ} \text{ hoja} - T^{\circ} \text{ aire}$).

Efecto de la polinización sobre el cuajado de frutos

Para determinar el efecto de la polinización en el cuajado de frutos bajo diferentes condiciones, se utilizó un diseño de parcelas divididas en cada experimento. Las parcelas grandes correspondieron al factor riego, asignado en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Dentro de cada parcela, se marcaron 30 brotes de flor terminal (varias hojas y una flor) en estado de botón alargado (estado 59 de la escala BBCH; Agustí *et al.*, 1997) estado en el que aún no se ha producido la dehiscencia de las anteras, completando en todo el ensayo 480 brotes. A cada brote dentro de las parcelas grandes, se le asignó completamente al azar, uno de los tres tratamientos siguientes: a) 'control' (C); b) emasculados (E) y c) emasculados y polinizados manualmente (EP) con polen de mandarina 'Nova', variedad efectiva en la polinización de 'Ortanique' (Soler, 1999). El polen de 'Nova' se colectó en flores recién abiertas (estado 61 de la escala BBCH; Agustí *et al.*, 1997). Los tratamientos E y EP se cubrieron con bolsas de tela semitransparente y permeable, las cuales fueron retiradas finalizado el período de posible polinización (15 días post anthesis). Se realizó un seguimiento semanal de la abscisión de cada brote y se midió el diámetro ecuatorial de los mismos. Al final del período de abscisión se cuantificó el porcentaje de frutos cuajados, porcentaje de frutos con semilla y número de semillas por fruto. Dentro de los frutos cuajados pertenecientes al tratamiento C, se contabilizaron aquellos sin semillas a efectos de poder comparar su cuajado final con los frutos del tratamiento E. Como no fue posible determinar la proporción de frutos sin semilla abscionados, se estimó el porcentaje mínimo de cuajado final de frutos sin semilla en el tratamiento C con la siguiente fórmula:

donde:

$$\% \text{ cuajado frutos C sin semilla} = \frac{N^{\circ} \text{ frutos sin semilla}}{N^{\circ} \text{ frutos totales} - N^{\circ} \text{ frutos con semilla}} \times 100$$

'N° frutos sin semilla' es el total de frutos C que llegaron al final del período sin semillas,

'N° frutos totales' es el número de frutos C marcados al inicio del ensayo y

'N° frutos con semilla' corresponde al total de frutos C que presentaron semillas al final del ensayo.

Cálculo de Evapotranspiración del Cultivo

Para relacionar las necesidades de evapotranspiración del cultivo (ETc), con las entradas de agua al sistema (lluvia y riego), se calculó la evapotranspiración del cultivo a partir de la siguiente ecuación: $ETc = ETo \times Kc$, donde ETo es la evapotranspiración de referencia (Allen *et al.*, 1998), estimada con datos de una estación meteorológica del predio y Kc es el coeficiente de cultivo para cítricos en Uruguay (García y Castel, 2007).

Análisis estadístico

Las variables discretas 'proporción de frutos cuajados en brotes individuales' y 'proporción de frutos con semilla' se analizaron utilizando un Modelo Lineal Generalizado (McCullagh y Nelder, 1989), asumiendo distribución binomial y función de enlace logit.

La variable continua 'número medio de semillas por fruto' se analizó a través de un Modelo Lineal Mixto, asumiendo distribución normal y la diferencia de medias se analizó mediante la prueba de Tukey. El modelo utilizado para esta variable, correspondió a un diseño en parcelas divididas.

Para la variable 'proporción de frutos cuajados en ramas', el modelo incluyó los factores principales sombra y riego, así como su interacción, mientras que para las restantes variables el modelo incluyó los factores sombra, riego, la interacción sombra \times riego, polinización, interacción riego \times polinización, interacción sombra \times polinización y la interacción sombra \times riego \times polinización. Las variables continuas potencial hídrico, g_s y TH, en las distintas fechas, se compararon mediante intervalos de confianza ($1-\alpha = 0,95$).

Para determinar efectos de las distintas condiciones generadas sobre las variables indicadoras de estrés, se realizó un análisis de medidas repetidas en el tiempo a partir de las mediciones realizadas en las diferentes fechas.

Se ajustó una función potencia para la dinámica de abscisión en el tiempo, de los frutos en ramas y brotes marcados. La ecuación de la curva se linealizó, transformándola a una escala log-log, a fin de comparar las pendientes para determinar cambios en la dinámica de abscisión.

Para analizar la asociación entre la proporción de frutos cuajados y cada una de las variables indicadoras de estrés, se calculó el coeficiente de correlación de rangos de Spearman, a través de todas las fechas de evaluación, según el momento del día.

Resultados

Cuajado de frutos

El porcentaje de cuajado final fue en todas las situaciones inferior al 1 % (Cuadro 1), asociado a altas intensidades de floración y una proporción media de brotes generativos de 84 % (datos no mostrados). No se encontraron diferencias en el cuajado de las parcelas con y sin riego. Tampoco resultó significativa la interacción 'sombra \times riego'. Por el contrario, el sombreado de los árboles incrementó el porcentaje de cuajado final respecto de aquellos sin sombra (Cuadro 1).

Cuadro 1. Porcentaje de cuajado final en ramas para el experimento bajo malla (M) y sin malla (SM) y para tratamiento con riego (R) y sin riego (SR). Cada valor es el promedio \pm ES (n=8).

Factor Sombra	Factor Riego	Cuajado final (%)
M		0,52 a [†] \pm 0,17 a
SM		0,21 b \pm 0,19 b
	R	0,29 a \pm 0,15 a
	SR	0,38 a \pm 0,19 a

[†]Medias seguidas por la misma letra dentro de columnas para cada factor no difieren entre sí ($P \leq 0,05$).

En tres de las siete fechas de evaluación de cuajado, se observaron porcentajes superiores en los árboles bajo malla ($P \leq 0,05$), especialmente al final del período (Figura 2). En las restantes cuatro fechas, en dos de ellas se observaron diferencias ($P \leq 0,10$) a favor del experimento bajo malla.

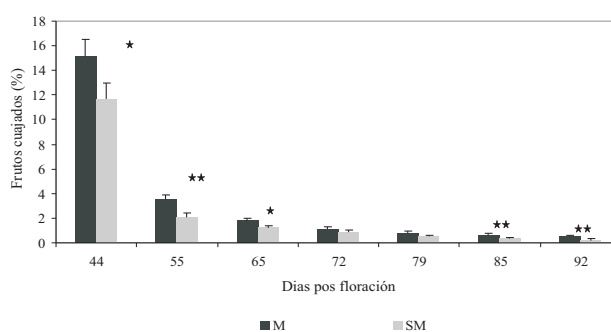


Figura 2. Porcentaje de frutos cuajados en ramas marcadas, según días pos floración, para el experimento bajo malla (M) y sin malla (SM). Valores son promedios \pm E.S, n=32 (Diferencias significativas [$P \leq 0,05$] son indicadas por dos asteriscos (**) y ($P \leq 0,10$) por un asterisco (*).

Por otra parte, en ninguna de las fechas consideradas, se observó un efecto significativo del factor riego ni de la interacción ‘sombra × riego’, sobre el porcentaje de frutos cuajados (datos no mostrados).

Variables indicadoras de estrés

Potencial hídrico: Se observaron efectos significativos del sombreado y del riego, sobre el ψ_F en horas de alta demanda (ψ_{Fme} y ψ_{Fl}), mientras que la interacción ‘sombra × riego’ (datos no presentados) no fue significativa (Cuadro 2). Por otra parte, el ψ_X sólo fue modificado significativamente por el factor riego en todas las horas evaluadas (Cuadro 2), registrándose valores más bajos para el tratamiento de secano.

El integral de estrés (S_{ψ_F} y S_{ψ_X}) calculado para cada una de las cuatro condiciones simuladas (sombra × riego) en las diferentes horas de medición, se presenta en la Figura 3. En las medidas de la mañana (mayor relación con el contenido de agua en el suelo) se evidencia la falta de agua al final del período de cuajado, donde los árboles sin riego terminaron con valores de S_{ψ_F} y S_{ψ_X} más altos (Figura 3.1a y 3.2a). En este período no se registraron lluvias (datos no mostrados). En las restantes horas de medición (mediodía y tarde) se verifica un efecto de la demanda atmosférica sobre el ψ_F y por tanto de la S_{ψ_F} (Figura 3.2b y 3.2c), dado que los tratamientos sin cobertura mantienen siempre valores más altos que los tratamientos con malla, indicando

Cuadro 2. Potencial hídrico foliar (ψ_F), potencial hídrico xilemático (ψ_X), conductancia estomática (g_s) y temperatura de hoja (TH) medidos en hojas de árboles bajo malla (M) y sin malla (SM) y de árboles con riego (R) y sin riego (SR), según hora de medición. Cada valor es el promedio \pm ES (n=12). Diferencias significativas ($P \leq 0,05$) dentro de cada variable y factor se indican con un asterisco (*).

Variable	Factor		Hora de medición		
	Sombra	Riego	07:00	12:00	14:00
ψ_F (MPa)	M		-0,79 \pm 0,05	-1,45 \pm 0,08*	-1,44 \pm 0,09*
	SM		-0,85 \pm 0,05	-1,84 \pm 0,08	-1,82 \pm 0,09
		R	-0,76 \pm 0,05	-1,54 \pm 0,08*	-1,45 \pm 0,08*
		SR	-0,88 \pm 0,05	-1,75 \pm 0,08	-1,81 \pm 0,08
ψ_X (MPa)	M		-0,64 \pm 0,03	-1,13 \pm 0,06	-1,24 \pm 0,05
	SM		-0,70 \pm 0,03	-1,29 \pm 0,06	-1,23 \pm 0,05
		R	-0,58 \pm 0,03*	-1,04 \pm 0,06*	-0,98 \pm 0,05*
		SR	-0,75 \pm 0,03	-1,38 \pm 0,06	-1,50 \pm 0,05
g_s (mmol.m ⁻² .s ⁻¹)	M		157,5 \pm 19,9	116,7 \pm 13,0*	98,4 \pm 13,3
	SM		147,4 \pm 18,6	63,0 \pm 12,8	68,7 \pm 12,6
		R	171,0 \pm 19,0	103,2 \pm 13,0	94,1 \pm 14,2
		SR	132,3 \pm 19,8	74,9 \pm 12,8	72,7 \pm 13,8
TH (° C)	M		23,7 \pm 0,6	--	25,3 \pm 0,7*
	SM		23,8 \pm 0,6	--	29,1 \pm 0,7
		R	24,0 \pm 0,6	--	27,1 \pm 0,7
		SR	23,5 \pm 0,6	--	27,3 \pm 0,7

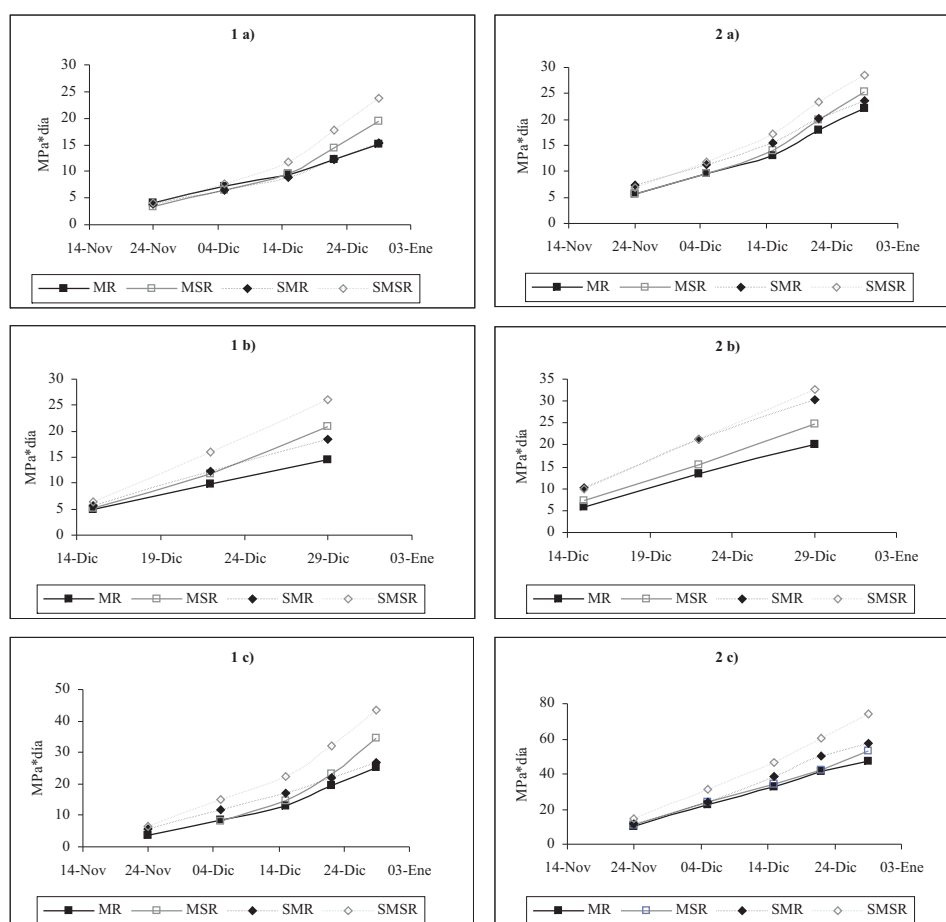


Figura 3. Integral de estrés (MPa.día) calculado a partir del potencial hídrico foliar, en la mañana (1a), mediodía (1b) y tarde (1c) y a partir del potencial hídrico xilemático en la mañana (2a), mediodía (2b) y tarde (2c), en cuatro condiciones: 'MR' malla y riego; 'MSR' malla sin riego; 'SMR' sin malla y riego y 'SMSR' sin malla y sin riego. Cada valor es el promedio para cada intervalo de tiempo en 12 hojas.

mayor intensidad y duración del estrés en los primeros. El integral de estrés calculado a partir del ψ_x (Figura 3.1a, 3.1b y 3.1c) estuvo más afectado por la falta de riego al final del periodo de evaluación.

Conductancia estomática. Se pudo constatar un efecto del sombreado de los árboles sobre el valor medio de g_s según la hora de medición (Cuadro 2), mientras que el factor 'riego' y la interacción 'sombra \times riego' no resultaron significativos. Los árboles sombreados, presentaron mayores valores de g_s , alcanzando diferencias significativas sólo en horas del mediodía.

Temperatura de hoja. El sombreado de los árboles disminuyó la temperatura media de las hojas, mientras que los tratamientos de riego y la interacción, no tuvieron efecto sobre esta variable, a ninguna hora ni fechas

de medición (datos no mostrados). En hojas expuestas al sol en horas de máxima demanda, se registró un valor medio 4°C menor en los árboles sombreados respecto a los no sombreados (Cuadro 2). La diferencia DT fue siempre negativa para los árboles bajo malla (entre -2.9 y -2.55°C) mientras que para los árboles que no tenían cobertura se mantuvo en valores positivos (entre 0.07 y 2.17°C).

Relación entre variables indicadores de estrés y cuajado

Se encontró una asociación significativa entre la proporción de frutos cuajados y las variables indicadoras de estrés, en momento de máxima demanda atmosférica, medida a través del coeficiente de correlación de

Cuadro 3. Coeficiente de correlación de rangos de Spearman, entre la proporción de frutos cuajados y potencial hídrico foliar y xilemático (Ψ_F y Ψ_X), conductancia estomática (g_s) y temperatura de hoja (TH), medidos a las 14:00hs (n=22).

		Variables fisiológicas			
		TH (° C)	Ψ_F (MPa)	Ψ_X (MPa)	g_s (mmol.m ⁻² .s ⁻¹)
Proporción de cuajado	Coefficiente de correlación	-0,976	0,439	0,706	0,786
	Prob > r	<0,0001	0,0362	0,0002	0,0208

Spearman (Cuadro 3). Los valores que indican mayores niveles de estrés en la planta (mayor TH, menor Ψ_F , Ψ_X y g_s) se asociaron con menores porcentajes de cuajado.

Efecto de la polinización sobre el cuajado

Según el modelo utilizado para explicar el cuajado en brotes individuales, los únicos efectos que resultaron significativos fueron la polinización y la interacción 'sombra × polinización'.

Polinización. Al comparar el valor medio de cuajado final de los distintos tratamientos al brote, se constató un efecto significativo de la polinización artificial sobre el cuajado de brotes terminales (Cuadro 4). La polinización con una variedad compatible, aumentó significativamente el valor de cuajado final y fue muy efectiva en lograr la fecundación, constatándose la presencia de semillas en todos los frutos que permanecieron hasta el final del período. Los frutos en brotes control (C) cuajaron más que aquellos en brotes emasculados (E), y aproximadamente la mitad de sus frutos presentaron semillas (56 % de los frutos en M y

Cuadro 4. Porcentaje de cuajado final de brotes terminales control (C), brotes terminales emasculados (E) y brotes terminales emasculados y polinizados (EP). Valores promedios ± ES (n=160).

Brote	Cuajado final (%)
C	19,10 ± 6,95 b [†]
E	2,39 ± 2,68 c
EP	48,62 ± 9,90 a

[†]Medias seguidas por la misma letra dentro de columnas no difieren entre sí (P≤0,05).

47 % en SM). Comparando el porcentaje mínimo de cuajado final de los frutos C que no presentaban semillas con los brotes E (todos sin semillas), se comprobó un cuajado significativamente mayor en los primeros (14 % y 2 %, respectivamente; P≤0,01).

'Sombra × polinización'. El cuajado final de los brotes emasculados y polinizados (EP) fue significativamente mayor en los árboles sombreados que en árboles sin cobertura (P < 0,0001). También se observó un patrón de abscisión distinto entre experimentos o localidades para estos brotes, confirmado por las pendientes de las curvas linealizadas (Figura 4), que resultaron significativamente diferentes (P < 0,0001). A su vez, estos brotes (EP) tuvieron mayor porcentaje de cuajado respecto a los otros dos tratamientos (C y E) sólo en el experimento bajo malla (Figura 5).

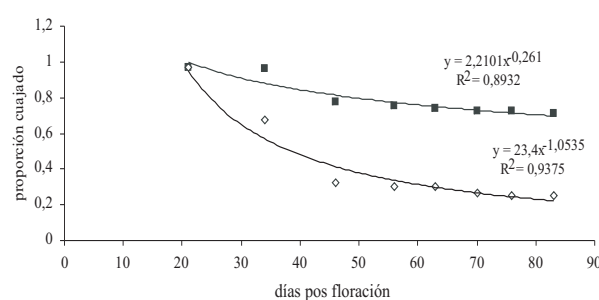


Figura 4. Proporción de cuajado de brotes emasculados y polinizados (EP) según días pos floración, para el experimento bajo 'M' malla (■) y 'SM' sin malla (◇) y ecuación de la curva ajustada. Cada punto representa la proporción media observada en cada experimento sobre un total de 80 frutos.

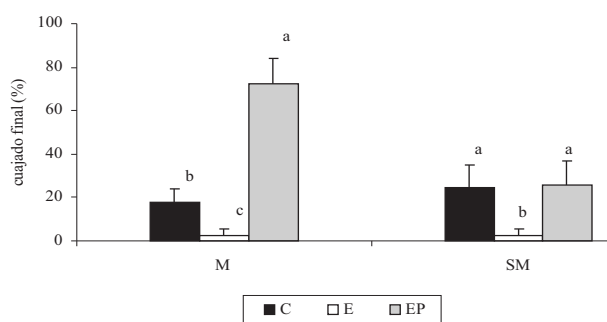


Figura 5. Porcentaje de cuajado final de frutos (%) para el tratamiento control (C), emasculado (E) y emasculado y polinizado (EP), correspondientes al experimento bajo malla (M) y sin malla (SM). Cada valor es el promedio \pm ES (n=80). Letras diferentes dentro de cada experimento indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$).

En el Cuadro 5, se muestra el número medio de semillas por fruto según experimento y tratamiento al brote (C y EP). Los frutos provenientes de brotes C presentaron igual número promedio de semillas por fruto en ambas situaciones (M y SM), mientras que los frutos en brotes EP duplicaron este valor en los árboles bajo malla respecto a aquellos en árboles sin cobertura.

Cuadro 5. Número promedio de semillas por fruto correspondientes al tratamiento control (C) y emasculado y polinizado (EP) para el experimento bajo malla (M) y sin malla (SM). Cada valor es el promedio \pm ES (n promedio=27).

Experimento	Tratamientos de polinización	
	C	EP
M	1,2 \pm 0,45	13,6 \pm 0,91
SM	1,3 \pm 0,45	6,2 \pm 0,91
	ns	**

ns= no significativo; ** significativo ($P \leq 0,05$).

Discusión

El bajo porcentaje de cuajado cuantificado en nuestro trabajo confirma reportes previos para 'Ortanique' en nuestro país. El efecto positivo del sombreado de los árboles sobre el cuajado verificado en este trabajo puede relacionarse a varios factores vinculados a situaciones de estrés. Jifon y Syvertsen (2003) encontraron que un estrés por alta radiación y temperatura en árboles cítricos, provoca una disminución en la A_c , explica-

da hasta en 25 % por una menor g_s , mientras que las limitaciones en la A_c debido a factores no estomáticos superó el 40 %. Otros autores, también asocian reducciones en la A_c inducida por altas temperaturas a factores no estomáticos, como podría ser el proceso de fotoinhibición (Blanke, 2000).

El sombreado aumentó en forma significativa la g_s en hojas en horas del mediodía, confirmando los reportes de Cohen *et al.* (1997) y Syvertsen *et al.* (2003). Los primeros proponen que los cítricos ajustan la conductancia en hojas para mantener la transpiración constante en diferentes ambientes. Adicionalmente, estos autores encontraron que incrementos en g_s fueron acompañados por incrementos en la A_c , asociación que ha sido confirmada también por Raveh *et al.* (2003). Otros factores no estomáticos que puedan afectar en forma negativa la A_c no fueron evaluados en este trabajo.

El ψ_F también fue afectado por el sombreado de los árboles en horas de mayor demanda, donde los árboles bajo malla alcanzaron valores más altos de ψ_F (Cuadro 3), coincidiendo con los resultados de Cohen *et al.* (1997). Durante el período de evaluación se pudo constatar un mayor estrés acumulado (tanto en intensidad como en duración) medido a través del S_{ψ_F} (Figuras 3.2b y 3.2c), en árboles sin cobertura en horas del mediodía y máxima demanda. El ψ_F es un indicador muy afectado por factores microambientales, especialmente por la exposición a la luz solar directa y mayor temperatura que presentan las hojas externas (Shackel *et al.*, 1997). Este mayor estrés por radiación y temperatura podría relacionarse con el menor porcentaje de cuajado verificado en estas condiciones (SM). En síntesis, las variables fisiológicas afectadas por el sombreado fueron la TH, la g_s y el ψ_F . Estas evidencias sugieren que durante el ensayo se dieron condiciones de estrés localizadas a nivel foliar, más que a nivel de planta entera.

Se pudo verificar una correlación significativa entre las variables fisiológicas Y_F , Y_X , g_s y TH, registradas a máxima demanda atmosférica y la proporción de frutos cuajados.

Esta asociación, podría explicarse por los efectos directos de estas variables sobre el proceso de fotosíntesis, como también sobre otros procesos regulados hormonalmente. Una menor A_c implica menos fotoasimilados disponibles para los frutos y otras fosas en crecimiento hacia el final del período de cuajado (Kobashi *et al.*, 2000, Jifon y Syvertsen, 2003; Raveh *et al.*, 2003). En esta línea, Raveh *et al.* (2003) encontraron mayor concentración de almidón, sacarosa, glucosa y carbohidratos totales, en hojas de tanger 'Murcott' en árboles bajo malla.

Frente a situaciones de estrés fundamentalmente hídrico, la planta sintetiza ABA y ACC en raíces (Gómez-Cadenas *et al.*, 1996) y en frutos (Kobashi *et al.*, 2000), y éste modula los niveles de etileno, provocando la abscisión de distintos órganos. Bower (2000) plantea que en condiciones de estrés hídrico, sumado al aumento en la síntesis de ABA, se disminuye la síntesis de citoquininas en raíces y su transporte a los brotes y hojas. El balance entre ABA por un lado y citoquininas y auxinas por otro, es un mecanismo de regulación importante de la g_s (Flore y Lackso, 1989). Se ha demostrado que incrementos en la concentración de citoquininas en la savia xilemática promueve la apertura estomática y disminuye la sensibilidad al ABA (Acharya y Assmann, 2008). Adicionalmente, las citoquininas tienen un rol importante en la división celular, proceso predominante del crecimiento de los frutos durante el período de cuajado y favorecen el transporte de nutrientes a las hojas desde otras partes de las plantas.

El factor riego evaluado en este trabajo, no tuvo efecto significativo sobre el porcentaje de cuajado final de frutos. Previamente a la instalación del ensayo, durante parte del invierno y comienzos de primavera (julio a setiembre), se registraron lluvias importantes (promedio mensual de 113 mm). Estas entradas de agua por lluvia, superaron ampliamente las necesidades de evapotranspiración del cultivo (datos no presentados), por lo que se podía esperar que los suelos de la quinta de alta capacidad de retención de agua, tuvieran suficiente agua disponible al momento de instalación del ensayo. Según García (1995), si los árboles llegan a la primavera con suficiente agua disponible en el suelo y dado que el uso de agua por el cultivo no es alto entre setiembre y noviembre, no se espera que ocurran déficits hídricos importantes, aún sin riego. Este autor, en un ensayo de riego en naranjas y limones en el sur del Uruguay, no observó diferencias en rendimiento entre los tratamientos de secano y de riego desde floración hasta fin de caída fisiológica. La ausencia de diferencias entre ambos tratamientos (R y SR), también se constató en la g_s y TH. El riego sólo tuvo efecto sobre el ψ_F y ψ_X . Los árboles sin riego tuvieron valores menores en ambos casos, confirmando resultados reportados previamente (Kobashi *et al.*, 2000).

La polinización manual y fecundación constatada en este ensayo incrementó significativamente el cuajado final de los frutos, coincidiendo con resultados encontrados para otras variedades autoincompatibles (Chao, 2005) y a nivel nacional para esta variedad (Carrau *et al.*, 1993). La emasculación de flores provocó una

abscisión masiva de frutos, llegando casi al 100 %. En los brotes C, aproximadamente la mitad de los frutos que llegaron al final del período de cuajado presentaron semillas, lo que sugiere que fueron polinizados y fecundados por polen de variedades compatibles cercanas en la quinta, y esto mejoró su habilidad para competir con otras fosas. El resto de los frutos C que llegaron al final del período de cuajado sin semillas presentaron mayores porcentajes de cuajado que los brotes E. Aunque no se puede afirmar que los frutos control sin semillas fueron polinizados naturalmente, estos mayores porcentajes de cuajado sugieren la posibilidad de una partenocarpia estimulada por la polinización, que aunque no se concrete la fecundación- induciría la síntesis hormonal necesaria para el cuajado de estos frutitos. Mesejo *et al.* (2004) en un estudio sobre dos cultivares de mandarinas autoincompatibles 'Marisol' y 'Fortune', encontraron un efecto positivo de la polinización manual con su propio polen, tanto en el cuajado de frutos como en el crecimiento de los mismos. La autopolinización, sin concretarse la fecundación, disminuyó la abscisión de un 24 % en flores emasculadas a un 5 % en flores autopolinizadas.

Se verificó un comportamiento diferente de los tratamientos de polinización en los dos experimentos o localidades (M y SM). En los árboles sin cobertura (SM) los frutos provenientes de brotes polinizados artificialmente (EP) cuajaron menos que los frutos EP que estaban en árboles bajo malla. Adicionalmente, estos frutos en la condición SM no se diferenciaron en su cuajado final de los frutos C. Estos resultados no confirmaron una de las hipótesis planteadas originalmente, que sostenía que los frutos con semillas tienen mayores posibilidades de cuajar especialmente en condiciones de mayor estrés. Los brotes EP en el experimento SM presentaron significativamente menos semillas por fruto con respecto a los frutos bajo malla. La causa del menor número de semillas de los brotes EP en el experimento SM con respecto a M, no es posible determinarla a partir de este ensayo. Una posible explicación e hipótesis de trabajo para futuros ensayos podría ser que bajo malla, condiciones de menor temperatura y radiación directa extenderían la funcionalidad de la flor, permitiendo la fecundación de un mayor número de óvulos. La funcionalidad de la flor se podría expresar como el período de polinización efectiva (PPE) definido como el tiempo durante el cual se puede producir un fruto a través de la polinización y fecundación (Williams, 1965). Se calcula como la diferencia en días de longevidad del óvulo de una flor y el tiempo que tarda el tubo polínico en alcanzarlo para fecundarlo desde que

germina en el estigma. En cítricos, no existe mucha información sobre el efecto de las condiciones ambientales en el período de polinización efectiva; en otras especies frutales existen varios trabajos que reportan un efecto directo de la temperatura sobre la duración de la receptividad del estigma y sobre la germinación y crecimiento del tubo polínico. En cerezo, se ha constatado que altas temperaturas acortan el período de receptividad del estigma y bajas temperaturas lo aumentan. Sumado a esto altas temperaturas reducen la capacidad de germinación del polen (Hedhly *et al.*, 2003). Tromp y Borsboom (1994) sostiene que temperaturas moderadas durante la floración en manzano y peral, disminuyen la tasa de crecimiento del tubo polínico pero extienden el período de polinización efectiva, a través de una extensión de la vida del óvulo.

En resumen, nuestros resultados confirman el bajo porcentaje de cuajado de 'Ortanique', especialmente en condiciones de alta floración. La disminución del estrés térmico y lumínico con el uso de mallas sombra, confirmado a través de algunas variables indicadoras de estrés, mejoró el cuajado final. Sin embargo, el potencial hídrico xilemático (mejor indicador del estado hídrico de la planta) no se vio afectado por el sombreado. Estos resultados sugieren que durante el ensayo se dieron condiciones de estrés localizadas a nivel foliar y que éstas pueden afectar el desarrollo del fruto en etapas tempranas. En las condiciones del experimento, no se verificó que la supresión del riego produjera situaciones de estrés que pudieran afectar el cuajado final de frutos. Mediante el manejo de la polinización se confirmó que la fecundación de las flores de 'Ortanique' mediante polen de una variedad compatible, incrementó en forma significativa el cuajado final, especialmente bajo malla sombra.

Agradecimientos

Queremos agradecer a Juan Carlos Codina y Homero Rodríguez por la cesión de las plantas para realizar el trabajo y por el cuidado y apoyo en las distintas actividades del mismo.

Bibliografía

- Acharya, B. R. and Assmann, S. M. 2008. Hormone interaction in stomatal function. *Plant Mol. Biol.* Online version: <http://www.springerlink.com/content/u4t3451285511715/fulltext.pdf>
- Agustí, M.; Martínez-Fuentes, A.; Mesejo, C.; Juan, M. y Almela V. 2003. Cuajado y desarrollo de los frutos cítricos. Serie Divulgación Técnica N° 55. Ed. Generalitat Valenciana. Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación. 80p.
- Agustí, M.; Zaragoza, S.; Bleiholder, L.; Buhr, H.; Hack, H.; Klose, R.; Staub, R. 1997. Adaptation de l'échelle BBCH à la description des stades phénologiques des agrumes de genre *Citrus*. *Fruits* 52: 287-295.
- Allen, R. G.; Pereira, L. S.; Raes, D. and Smith, M. 1998. Crop evapotranspiration (guidelines for computing crop water requirements). FAO Irr Drain Paper N° 56, FAO, Rome.
- Arias, M.; Ronca, F.; Arbiza, H. y Gravina, A. 1996. Estudio del comportamiento fenológico-reproductivo del tangor Ortanique (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Citrus reticulata* Bl.) en el Sur del Uruguay. Actas de la XXI Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Mendoza, Argentina: 208-209.
- Blanke, M. M. 2000. Photoinhibition in citrus. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 1: 619-622.
- Bower, J.P. 2000. Water stress in citrus and its alleviation. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 1: 630-633.
- Carrau, F.; Franco, J. y Diez, J. C. 1993. Evaluación del híbrido cítrico Sunburst. INIA, Serie Técnica No. 31:16p.
- Chao, C. T. 2005. Pollination study of mandarins and the effect on seediness and fruit size: implications for seedless mandarin production. *Hort. Sci.*, 40(2): 362-365.
- Cohen, S.; Moreshet, S.; Le Guillou, L.; Simon, J. C. and Cohen, M. 1997. Response of citrus trees to modified radiation regime in semi-arid conditions. *J. Exp. Bot.*, 48(306): 35-44.
- Espino, M.; Borges, A.; Da Cunha Barros, M.; Gambetta, G. y Gravina, A. 2005. Manejo de la floración y cuajado de frutos en tangor 'Ortanique'. Memorias II Simposio Investigación y desarrollo tecnológico en Cítrus. Montevideo, Uruguay. CD, 4p
- Flore, J. A. and Lakso, A. N. 1989. Environmental and physiological regulation of photosynthesis in fruit crops. *Hort. Reviews*, 11: 111-157.
- García Petillo, M. 1995. Effects of irrigation periods on citrus yield and fruit quality in Uruguay. *Proc. Fifth Int. Microirrigation Cong.*, April 2-6, 1995. Orlando, Florida, USA. pp 492-496.
- García Petillo, M. and Castel, J. R. 2007. Water balance and crop coefficient (Kc) estimation of a citrus orchard in Uruguay. *Spanish J. of Agric. Res.*, Vol. 5(2), 232-243.
- Gillaspy, G.; Bendavid, H. and Gruijsem, W. 1993. Fruits: a developmental perspective. *Plant Cell*, 5: 1439-1451.
- Goldschmidt, E. E. and Monselise, S. P. 1977. Physiological assumptions toward the development of a citrus fruiting model. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 2: 668-672.
- Gómez-Cadenas, A.; Tadeo, F. R.; Talón, M. and Primo-Millo, E. 1996. Leaf abscission induced by ethylene in water-stressed intact seedlings of Cleopatra mandarin requires previous abscisic acid accumulation in roots. *Plant Physiol.*, 112: 401-408.

- González-Altozano, P. and Castel, J. R.** 1999. Regulated deficit irrigation in Clementina de Nules citrus trees. I. Yield and fruit quality effects. *J. Hort. Sci. & Biotech.*, 74(6): 706-713.
- Guardiola, J. L.** 1988. Factors limiting productivity in citrus: a physiological approach. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 1: 381-394.
- Hedhly, A.; Hormaza, J. I. and Herrero, M.** 2003. The effect of temperature on stigmatic receptivity in sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Plant Cell Environ.*, 26:1673-1680.
- Herrero, M.** 1992. From pollination to fertilization in fruit trees. *Plant Growth Regulation* 11: 27-32.
- Iglesias, D. J.; Cercós, M.; Colmenero-Flores, J. M.; Naranjo, M. A.; Ríos, G.; Carrera, E.; Ruiz-Rivero, O.; Lliso, I.; Morillon, R.; Tadeo, F. R. and Talón, M.** 2007. Physiology of citrus fruiting. *Braz. J. Plant Physiol.*, 19(4): 333-362.
- Iglesias D. J., Tadeo F. R., Primo-Millo E. and Talón M.** 2003. Fruit set dependence on carbohydrate availability in citrus trees. *Tree Physiol.* 23:199-204.
- Jifon, J. L. and Syvertsen, J. P.** 2003. Moderate shade can increase net gas exchange and reduce photoinhibition in citrus leaves. *Tree Physiol.*, 23: 119-127.
- Kobashi, K.; Gemma, H. and Iwahori, S.** 2000. Abscisic acid content and sugar metabolism of peaches grown under water stress. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 125(4): 425-428.
- McCullagh, P. and Nelder, J. A.** 1989. *Generalized Linear Models*. London: Chapman and Hall.
- Mesejo, C.; Martínez-Fuentes, A.; Reig, C.; Juan, M.; Almela, V. and Agustí, M.** 2004. Effect of Cross-Pollination between Marisol and Fortune mandarin on fruit set and sugar content. *Proc. Intl. Soc. Citriculture*, 2: 459-461.
- MGAP.** 2008. Encuesta Citrícola «Primavera 2007». DIEA, Serie Encuestas N° 259, 24 p.
- Myers, B.J.** 1988. Water stress integral – a link between short-term stress and long-term growth. *Tree Physiol.*, 4: 315-323.
- Raveh, E.; Cohen, S.; Raz, T.; Yakir, D.; Grava, A. and Goldschmidt, E.E.** 2003. Increased growth of young citrus trees under reduced radiation load in a semi-arid climate. *J. Exp. Bot.*, 54(381): 365-373.
- Rivas, F.; Erner, Y.; Alós, E.; Juan, M.; Almela, V. and Agustí, M.** 2006. Girdling increases carbohydrate availability and fruit-set in citrus cultivars irrespective of parthenocarpy ability. *J. Hort. Sci. & Biotech.* 81(2): 289-295.
- Rivas, F.; Gravina, A. and Agustí, M.** 2007. *Tree Physiol.*, 27: 527-535.
- Scholander, P. F.; Hammel, H. T.; Bradstreet, E. D.; and Hemmingsen, E. A.** 1965. Sap pressure in vascular plants. *Sci.*, 148: 339-346.
- Shackel, K.** 2001. The use of midday stem water potential for irrigation scheduling and water stress diagnosis in prune and almond. *International Symposium Irrigation and Water Relations in Grapevines and Fruit Trees*. Mendoza, Argentina, 4-6p.
- Shackel, K.A.; Ahmadi, H.; Biasi, W.; Buchner, R.; Goldhamer, D. and Gurusinghe, S.** 1997. Plant water status as an index of irrigation need in deciduous fruit trees. *HortTech.*, 7: 23-29.
- Soler, J.** 1999. Reconocimiento de variedades de cítricos en campo. *Generalitat Valenciana. Serie de divulgación técnica*. N° 43: 187p.
- Syvertsen, J. P.; Goñi, C. and Otero, A.** 2003. Fruit load and canopy shading affect leaf characteristics and net gas exchange of 'Spring' navel orange trees. *Tree Physiol.*, 23: 899-906.
- Talón, M.; Mehouchi, J.; Moltalván, J.; Tudela, E. y Villalba, D.** 1999. Factores que afectan a la abscisión y cuajado de los frutos de los cítricos. *Levante Agrícola*, 346: 5-13.
- Talón, M.** 1997. Regulación del cuajado del fruto en cítricos: evidencias y conceptos. *Levante Agrícola*, 338: 27-37.
- Tromp, J. and Borsboom, O.** 1994. The effect of autumn and spring temperature on fruit set and on the effective pollination period in apple and pear. *Scientia Hort.*, 60: 23-30.
- Williams, R. R.** 1965. The effect of summer nitrogen applications on the quality of apple blossom. *J. Hort. Sci.*, 40: 31-41.