SELECCIÓN DE POLINIZADORES PARA LA VARIEDAD DE PERAL 'AGUA DE ARANJUEZ'

J. Sanzol
M. Herrero
Depart. Fruticultura, SIA-DGA
Apdo. 727, 50080 Zaragoza

Introducción

La variedad de peral 'Agua de Aranjuez (AA)' ha sido tradicionalmente reputada por sus bajos cuajados (Sotes, 1974; Cambra y Herrero, 1977), atribuyéndole en algunas zonas de producción, problemas serios de esterilidad (Cambra, 1962). Este hecho unido a la incidencia de heladas frecuentes en las zonas de plantación de esta variedad hizo que se extendiese el uso de las giberelinas en su producción prescindiéndose del uso de polinizadores y estableciéndose parcelas monovarietales que son las dominantes en la actualidad en el Valle del Ebro. A pesar de las producciones aceptables que se obtienen con el uso de GA3 (Herrero, 1984), la baja calidad del fruto y su escasa aptitud para la conservación ha hecho que en los últimos años la demanda de esta variedad se haya reducido considerablemente y gran cantidad de arboles se estén arrancando. Por otra parte las limitaciones crecientes al uso de hormonas de síntesis, urge la necesidad de habilitar sistemas de producción más respetuosos con el medio ambiente.

El hecho de que esta variedad tenga un alto grado de dependencia de polinización cruzada (resultados sin publicar) para obtener un cuajado aceptable y sea una de las primeras en florecer, unido a un corto periodo efectivo de polinización (Sotes, 1975; Herrero, 1983), hace que el número de variedades potencialmente útiles como polinizadores sea reducido. Existen datos de la buena aptitud de algunas variedades para polinizar 'AA' (Castell, Buena Luisa, Abate Fetel), así como de las buenas cosechas de esta variedad en asociación con variedades como Ercolini, Buena Luisa o Azúcar Verde (Cambra, 1962).

En los años 70, se llevo a cabo un trabajo de selección clonal para esta variedad (Cambra y Herrero, 1977). De las diferencias establecidas entre clones, para producción en condiciones de polinización libre, surgió el clon 840 que saneado, en la actualidad es el más utilizado por agricultores y viveristas. Se desconoce si el origen de estos clones es vegetativo, debiendo sus diferencias de comportamiento a variaciones somáticas o si se trata de distintos genotipos con relaciones de parentesco muy próximas pudiéndose presentar casos de inter-compatibilidad. La posibilidad de emplear como polinizador alguno de estos clones

permitiría el establecimiento de plantaciones monovarietales con una polinización adecuada.

En este trabajo se lleva a cabo una selección de polinizadores de 'AA'. Para ello se ha determinado por una parte las épocas de floración, seleccionando 17 variedades de floración temprana y coincidente con 'AA', y se han determinado las relaciones de inter-compatibilidad con esta. Por otra parte con el fin de explorar la posibilidad de establecer plantaciones monovarietales con buenas condiciones de polinización, se ha estudiado la relación de inter-compatibilidad entre 8 clones de 'AA'.

Material y Métodos

Material vegetal: Para este experimento se han utilizado arboles de peral cv. 'AA' injertados en membrillero 'EM' situados en una plantación del SIA y en la colección de variedades de peral, tanto del SIA como de la Estación Experimental de 'Aula Dei'. Las variedades utilizadas en este ensayo fueron las siguientes: Gentil Blanca, Coscia (Ercolini), Abugo, Mantecosa Precoz Morettini, Roma, Bergamota de Verano, Monsallard, Leonardeta (Magallón), Castell, Don Guindo, Buena Luisa de Avranches, Abate Fetel, Bella de Junio, Charles Ernest, Spadona, Tosca y Etrusca. Por otra parte se han empleado 7 clones de la colección de clones de 'AA' de la Estación Experimental de 'Aula Dei', AA 840, 1014, 1992, 2334, 1490, 2173 y 2294, así como el clon 'San Bruno' situado en una parcela experimental del SIA.

Determinación de la época de floración: Para la determinación de la época de floración se tomaron datos en la colección de variedades del SIA. Se siguió el estado fenológico de las yemas de flor, determinándose como inicio de floración el momento en que el 10% de las flores están en antesis, plena floración el periodo en que hay entre 50 y 90 % de flores en antesis y final de floración el momento en que se observó el inicio del marchitamiento general de los pétalos.

Técnicas de polinización: El polen se obtuvo a partir de flores en estado globoso (1 o 2 días antes de antesis). Se aislaron las anteras y se dejaron secar en papel a temperatura ambiente, 48 horas después se coló el polen en una malla de 0,26 mm y se guardó a 4ºC hasta su uso. Para las polinizaciones en campo se eligieron corimbos en estado E3 de desarrollo (Flekinger, 1955) con 3 o cuatro flores en estado globoso, eliminándose las flores adelantadas o retrasadas. Con el fin de evitar polinizaciones cruzadas o autopolinización (Free, 1964) las flores fueron emasculadas y los pétalos eliminados con la ayuda de pinzas. Las flores fueron polinizadas 48 horas después de la emasculación y fijadas en FAA (Formaldehido-Acido Acetico-Ethanol 70 %) (1:1:18) (Johansen, 1940), 5 y 12 días después de la

polinización para la observación de la germinación del polen en el estigma y crecimiento de tubos polínicos en el estilo y en el óvulo respectivamente.

Germinación del polen en el estigma y crecimiento del tubo polínico en el estilo: Pistilos fijados 5 días después de la polinización, se lavaron 3 veces en agua destilada durante una hora y se dejaron en 5% sulfito sódico durante toda la noche. Al día siguiente se autoclavaron 10 minutos a 1 kg. cm^{-2} (Jefferies and Belcher, 1974) y se montaron en squash con azul de anilina 0,1% en 0,1 NK_3 PO_4 (Linskens and Esser, 1957). Las preparaciones se observaron en un microscopio Ortolux II bajo luz ultravioleta usando un filtro excitador BP 355-425 y un filtro bloqueador LP 460.

Observación de tubos polínicos en el óvulo: Pistilos fijados 12 días después de la polinización, se disectaron dejando los óvulos expuestos en la parte inferior del ovario. Se lavaron dos veces con agua destilada durante una hora y se sumergieron en Na OH 4N durante una hora. Se lavaron de nuevo en agua destilada hasta que la superficie de los óvulos se obscurecía y se montaron para su observación al microscopio tal y con se describe en el párrafo anterior.

Resultados y Discusión

Fechas de floración: La floración en la colección de peral se inició en los tres años de ensayo durante las dos primeras semanas de Marzo. 'AA' esta dentro del grupo de variedades que florecen primero. Solo 'Gentil Blanca' se adelanta de forma consistente durante los tres años. 'Ercolini' y 'Abugo' aunque dependiendo de los años presentan una buena coincidencia durante el periodo de plena floración. El resto de variedades fueron seleccionadas para el ensayo por su coincidencia en plena floración, aunque esta fuese parcial y se registrasen diferencias de coincidencia entre años. 'Abate Fetel' es la variedad más tardía de este grupo, comenzando la plena floración en el momento en que 'AA' la finaliza.

Relaciones de compatibilidad-incompatibilidad: En los pistilos autopolinizados los estigmas tenían abundante cantidad de granos de polen germinados y los tubos polínicos crecían en la primera mitad del tejido transmisor del estilo donde la mayoría se detenían presentado una típica reacción de incompatibilidad, manifestada por tubos polínicos con extremos mazudos, aunque ocasionalmente se podía observar algún tubo polínico creciendo en la base del estilo. En el cruzamiento compatible control realizado con la variedad 'Castell', los tubos polínicos crecían hasta la base del estilo y un 47 % de los óvulos presentaban tubos polínico en la nucela, teniendo un 100 % de las flores algún óvulo fecundado. Sin embargo, en el caso de las autopolinizaciones la presencia de tubos polínicos en la nucela fue nula si bien en algunos era visible un tubo polínico creciendo en el obturador o en el micropilo. En base a estos resultados, las relaciones de

compatibilidad se determinaron como la capacidad del tubo polínico de alcanzar y fertilizar el óvulo. Para ello se observaron óvulos al microscopio con el fin de determinar la presencia de tubos polínicos creciendo en la nucela.

Intercompatibilidad entre clones: Con el fin de establecer si existían relaciones de Intercompatibilidad o diferentes grados de autocompatibilidad en diferentes clones de 'AA', se llevo a cabo un ensayo en el que se utilizo como padre y como madre en combinaciones con todos los clones, el clon 'San Bruno', cuyo comportamiento autoincompatible se estableció en ensayos anteriores. A su vez para cada clon se realizo una autopolinización y el correspondiente tratamiento control con polen compatible procedente de 'Castell'. La observación de granos de polen en el estigma mostró que la polinización se había hecho correctamente y que los granos de polen germinaban con normalidad. Para todos los clones en las flores polinizadas con Castell se observaron tubos creciendo en los óvulos. En el resto de tratamientos realizados no se observó presencia de tubos creciendo en los óvulos, por lo que se deduce que todos los clones ensayados son autoincompatibles e inter-incompatibles entre si.

Compatibilidad con variedades polinizadoras: En los ensayos de Intercompatibilidad de 'AA' con el resto de variedades, 14 de los 17 cruzamientos realizados resultaron compatibles, presentando entre un 30 y un 80% de óvulos con tubos polínicos en la nucela y en todos los casos un 100 de flores tenían algún óvulo fecundado. En dos casos, los cruzamientos con las variedades 'Roma' y 'Don Guindo' la hidratación y germinación del polen fue defectuosa. Estas poseen granos de polen de tamaño desigual, que se hidratan con dificultad y cuando germinan lo hacen anormalmente. Los tubos polínicos por lo general no llegan a penetrar en el tejido transmisor, y es extraño ver algún tubo polínico creciendo con normalidad en el estilo. Se trata de variedades triploides, con esterilidad parcial por la formación defectuosa de gametos (Modlibowska, 1945), y que por tanto no resultan adecuadas como variedades polinizadoras. Por otra parte el cruzamiento con la variedad 'Mantecosa Precoz Morettini' se mostró incompatible. En este cruzamiento los granos de polen germinaban con normalidad y el crecimiento de los tubos polínicos en el estilo correspondía al propio de un cruzamiento incompatible, deteniéndose en la primera mitad del estilo y presentando extremos mazudos. Con el fin de comprobar esta inter-incompatibilidad se realizo el cruzamiento recíproco (Mantecosa Precoz Morettini x AA), que también se mostró como incompatible. En base a estos resultados se puede establecer que 'AA' y 'Mantecosa Precoz Morettini' pertenecen a un mismo grupo de inter-incompatibilidad.

De las variedades ensayadas son potencialmente útiles como polinizadoras de 'AA' todas excepto 'Mantecosa Precoz Morettini' por ser inter-incompatible y,

'Roma' y 'Don Guindo' por su esterilidad debida a su constitución cromosómica triploide. De las 14 variedades restantes, las variedades con mejor coincidencia en floración son 'Gentil Blanca', 'Espadona', 'Coscia', 'Abugo' y 'Bergamota de Verano'. 'Coscia' es especialmente interesante por su aceptación en el mercado, conociéndose su buena aptitud como polinizador de 'AA' en el pasado (Cambra, 1962). El caso de 'Espadona' es de especial interés por considerarse una sinonimia de 'AA'. Aunque el clon estudiado es claramente distinto a 'AA' sus frutos en recolección son de características muy similares, madurando con más precocidad 'Espadona' (Manuel Carrera, comunicación personal). Existen otras 4 variedades ('Tosca', 'Etrusca', Castell' y 'Leonardeta'), que aun estando algo más desplazadas en floración resultan atractivas por su interés comercial. Entre estas, 'Castell' y 'Leonardeta', son variedades de bajo calibre y características muy similares, muy apreciadas por su precocidad, ambas se recogen durante la segunda quincena de junio. Por otro lado, 'Tosca' (Rivalta et al., 1993) y 'Etrusca' (Bellini, 1992) son dos nuevas variedades procedentes de programas de mejora, que han sido introducidas recientemente por los viveristas. Su principal interés reside en su precocidad que cubre el periodo existente entre 'Leonardeta' y 'Coscia' y es probable que sean variedades interesantes comercialmente en el futuro.

Agradecimientos: Los autores desean mostrar su agradecimiento a Manuel Carrera y Juan Marín por las facilidades prestadas en la utilización de las colecciones de variedades del SIA y de la Estación Experimental de 'Aula Dei' respectivamente. Este trabajo ha sido financiado por un proyecto INIA SC 98-049 y una beca pre-doctoral INIA a J.S.

Referencias

Bellini, E. (1992). New fruit crop variety: pear. Etrusca. Rivista di Frutticoltura e di Ortofloricoltura. 54: 9, 71.

Cambra, M. (1962). Determinación de variedades polinizadoras del peral 'Agua de Aranjuez'. An. Aula Dei. 7 (1/2): 85-92.

Cambra, M. y Herrero, J. (1977). Estudio sobre la irregularidad de producción de la variedad de peral 'Agua de Aranjuez'. An. Aula Dei 14 (1/2): 76-94.

Flekinger, J. (1955). Phenologie et arboriculture fruitière. Bon Jardinier 1: 362-372.

Free, J.B. (1964). Comparison of the importance of insect and wind pollination of apple trees. Nature, 201: 726-727.

Herrero, M. (1983). Factors Affecting fruit set in 'Agua de Aranjuez' pear. Acta Horticulturae 139, 91-96.

Herrero, M. (1984). Effect of time of GA3 treatment on 'Agua de Aranjuez' pear fruit set. Acta Horticulturae 149: 211-216

Jefferies, C.J. and Belcher, A.R. (1974). A fluorescent brightener used for pollen tube identification *in vivo*. Stain technology, 49: 199-202.

Johansen, D.A. (1940). Plant microtechniques. McGraw-Hill: New York.

Linskens, H.F. and Esser, K. (1957). Uber eine spezifische Anfarbung der Pollen.shläche und die Zagl Kallosapropten nach selbstung und fremdung. Naturwiss 44: 16.

Modlibowska, I. (1945). Pollen tube growth and embryo-sac development in apples and pears. J. Pomol. 21: 57-89.

Rivalta, L., Bagnara, G.L. and Laghi, M. (1993). New fruit crop variety: pear. Tosca. Rivista di Frutticoltura e di Ortofloricoltura. 55: 5, 101.

Sotes, V. (1974). Estudio de la polinización y cuajado de fruto en la variedad de peral 'Blanquilla de Aranjuez'. Tesis doctoral Escuela Técnica Superior Ingenieros Agrónomos, Madrid.

Sotes, V. (1975). Estudio del crecimiento del tubo polinico y de la longevidad de óvulos en la variedad de peral 'Blanquilla de Aranjuez'. ITEA: 19: 23-9.