

# NECESIDADES DE POLINIZACIÓN DE LAS PRINCIPALES VARIEDADES DE CIRUELO JAPONÉS CULTIVADAS EN ESPAÑA

<sup>1</sup> Departamento de Hortofruticultura. CICYTEX-Centro de Investigación 'Finca La Orden-Valdesequera'. Guadajira, Badajoz.

<sup>2</sup> Unidad de Hortofruticultura, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Zaragoza.

jrodrigo@aragon.es

## Problemática del cultivo del ciruelo

El ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.) es una especie originaria de China que se introdujo en el s. XIX en EEUU desde Japón a EEUU, donde comenzó su proceso de mejora mediante la hibridación con otras especies de ciruelo. A diferencia de otros frutales de hueso de su mismo género como el melocotonero (*Prunus persica*) o el cerezo (*Prunus avium*) que son especies puras, las variedades de ciruelo de tipo japonés que se cultivan en la actualidad no pertenecen a una sola especie, sino que se trata de variedades híbridas provenientes del cruzamiento entre distintas especies de *Prunus* (Okie y Weinberger, 1996). Esto hace que a menudo distintas variedades presenten diferentes características morfológicas y distintos comportamientos agronómicos (Guerra y Rodrigo, 2015).

A pesar de la importancia que ha alcanzado el cultivo del ciruelo japonés, algunas variedades presentan

## Resumen

La mayoría de las variedades de ciruelo japonés son autoincompatibles y para garantizar el cuajado necesitan ser cultivadas junto a otras variedades polinizadoras compatibles y coincidentes en floración. En este trabajo se describen las necesidades de polinización de las principales variedades de ciruelo japonés cultivadas en España. La autocompatibilidad o autoincompatibilidad de cada variedad se ha determinado mediante la observación al microscopio del crecimiento de los tubos polínicos a lo largo del pistilo en flores autopolinizadas. Las relaciones de incompatibilidad entre variedades se han determinado mediante la identificación de los alelos S de incompatibilidad de cada variedad usando marcadores moleculares, lo que ha permitido establecer diferentes grupos de incompatibilidad. Para una polinización adecuada, las flores de una variedad autoincompatible necesitan ser polinizadas por polen procedente de una variedad perteneciente a un grupo de incompatibilidad diferente y coincidente en floración. El conocimiento de las necesidades de polinización permite realizar una correcta selección de variedades en el diseño de nuevas plantaciones, así como detectar y resolver problemas de cuajado asociados a falta de polinización en plantaciones ya establecidas.

**Palabras clave.** *Prunus salicina*, auto(in)compatibilidad floral, alelos S, floración, relaciones de compatibilidad, selección de polinizadores.

importantes oscilaciones en el cuajado de un año a otro que repercuten negativamente en la cosecha (Okie y Weinberger, 1996; Hartmann y Neumüller, 2009). En los últimos años, estas situaciones de falta de cuajado han sido asociadas en la mayoría de los casos a problemas relacionados con la polinización (Guerra y Rodrigo, 2015).

Durante la floración del ciruelo japonés (Figura 1), diferentes factores pueden influir en el cuajado, como la viabilidad del polen, su transporte al estigma y la incompatibilidad polen-pistilo. En ciruelo japonés, como en otros frutales de hueso, es imprescindible la presencia de suficientes insectos polinizadores para asegurar la polinización. Cuando el grano de polen se deposi-

ta en el estigma de la flor, germina y emite un tubo polínico que crece hacia el estilo.

## Determinación de la auto(in)compatibilidad

Una vez que se realiza la polinización, se produce un proceso de reconocimiento entre los tubos polínicos y los tejidos del pistilo que desemboca en la expresión de incompatibilidad polen-pistilo (De Nettancourt, 2001). En el ciruelo japonés este sistema es de tipo gametofítico y está genéticamente controlado por un locus llamado S que determina el reconocimiento o el rechazo entre el tubo polínico y el pistilo (De Nettancourt, 2001). Cuando el polen expresa el mismo alelo S que uno de los dos alelos S



Figura 1. Detalle de flores de ciruelo japonés.

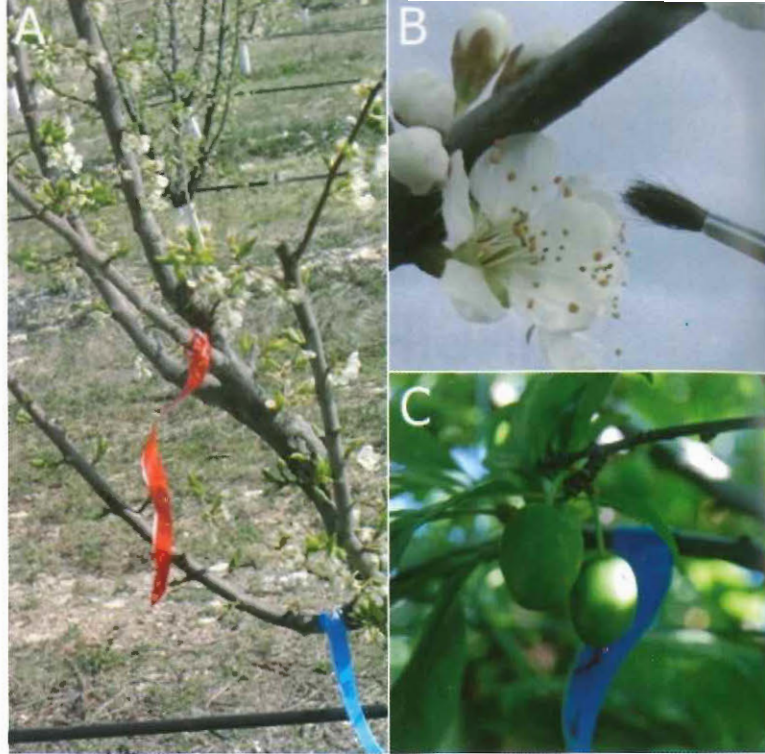


Figura 2. A: Ramas marcadas para la realización de ensayos de polinización; B: autopolinización manual de flores; C: frutos cuajados.

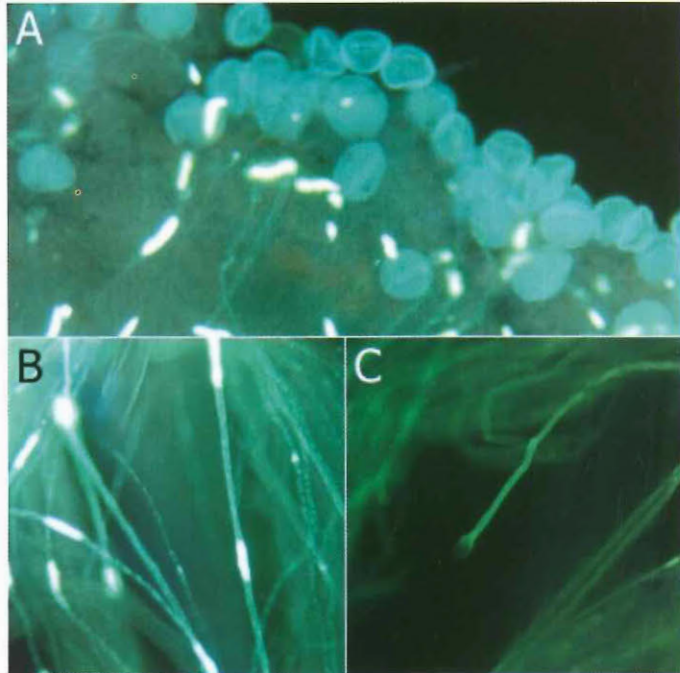


Figura 3. A: Germinación de granos de polen en el estigma de una flor; B: crecimiento de tubos polínicos a lo largo de un pistilo; C: parada del crecimiento de tubo polínico en el estilo.

del pistilo, la reacción es incompatible y se produce la parada del crecimiento de los tubos polínicos en el estilo, impidiendo así la fecundación del óvulo y por tanto el cuajado del fruto. Sin embargo, si el polen y el pistilo presentan alelos *S* distintos, los tubos polínicos pueden alcanzar el ovario de la flor y producirse la fecundación. La autocompatibilidad o autoincompatibilidad de cada variedad se determina mediante ensayos de polinización y cuajado en campo o mediante la observación al microscopio del crecimiento de tubos polínicos en flores autopolinizadas.

Para la realización de los ensayos de polinización y cuajado en campo se marcan ramas (Figura 2A) y se autopolinizan manualmente sus flores con polen de la misma variedad (Figura 2B). En las semanas siguientes se realizan conteos de las flores polinizadas hasta que se establece el

cuajado final. En las variedades autoincompatibles no se obtienen frutos cuajados, mientras que en las autocompatibles cuajan entre el 4 y el 8% de las flores, dependiendo de cada variedad (Figura 2C).

La auto(in)compatibilidad también se puede determinar mediante la observación al microscopio del crecimiento de los tubos polínicos a lo largo del pistilo en flores autopolinizadas. Para ello, unos días después de la polinización, cuando los tubos polínicos han tenido tiempo de alcanzar la base del estilo, se recogen las flores autopolinizadas y se preparan para su observación al microscopio de fluorescencia mediante la tinción con azul de anilina, que permite visualizar los tubos polínicos. En todas las situaciones se observan granos de polen que germinan en el estigma (Figura 3A). En las variedades autocompatibles se observan

tubos polínicos que avanzan hasta alcanzar la base del estilo (Figura 3B), mientras que en las variedades autoincompatibles los tubos polínicos detienen su crecimiento en el estilo (Figura 3C).

### Determinación de las relaciones de incompatibilidad entre las variedades

Para establecer las necesidades de polinización de las variedades autoincompatibles, que necesitan polinización cruzada, es necesario conocer las relaciones de incompatibilidad entre variedades. Estas relaciones también se pueden estudiar mediante ensayos de polinización y cuajado en campo o mediante la observación al microscopio del crecimiento de tubos polínicos en cruza- mientos controlados.

Estos métodos se pueden complementar con técnicas moleculares, que son rápidas y que, al realizarse con ADN, se pueden hacer partiendo de otros tejidos de la planta diferentes a las flores y que por lo tanto se pueden realizar en cualquier época del año y no sólo en primavera. Así, se han desarrollado técnicas de identificación de los alelos *S* de las distintas variedades mediante PCR, basadas en las diferencias de tamaño de las secuencias de las *S-RNAs* de cada alelo que permite diferenciar los alelos unos de otros e identificarlos y caracterizar las variedades (Guerra *et al.*, 2009).

Una vez que se han identificado los alelos *S* de incompatibilidad de cada variedad, éstas se pueden agrupar en sus correspondientes grupos de incompatibilidad. Dentro de cada grupo de incompatibilidad se incluyen las variedades que presentan los mismos alelos *S* y que son por tanto incompatibles entre sí. Para una polinización adecuada, las flores de una variedad autoincompatible necesitan ser polinizadas por polen procedente de una variedad perteneciente a un grupo de incompatibilidad diferente y coincidente en floración. El conocimiento de las necesidades de polinización permite realizar una correcta selección de variedades en el diseño de nuevas plantaciones, así como detectar y resolver problemas de cuajado asociados a falta de polinización en plantaciones ya establecidas.

La mayoría de variedades de ciruelo japonés son autoincompatibles y necesitan polinización cruzada para que se produzca la fecundación y el cuajado de fruto (Rodrigo y Guerra, 2014), ya que el género *Prunus* es incapaz de producir fruta de forma partenocárpica (Sedgley y Griffin, 1989; Hartmann y Neumüller, 2009). Sin embargo, también se han descrito algunas variedades auto-compatibles como Santa Rosa,

**Cuadro 1.** Grupos de Incompatibilidad y alelos *S* de incompatibilidad de las principales variedades de ciruelo japonés cultivadas en España.

G.I.	Alelos <i>S</i>	Variedades
I	<i>SaSb</i>	Red Beaut, 606
II	<i>SbSc</i>	Black Beaut, Blackamber, Delbartazur, Fortune, Golden Plum, Laroda, TC Sun, <b>Zanzi Sun</b>
III	<i>SbSf</i>	Frontier, AU Amber, AU Road Side
IV	<i>SbSh</i>	Eldorado, Freedom, Friar, Hiromi Red, Larry Ann, <b>Nubiana</b> , Owen T, Queen Ann
VII	<i>ScSh</i>	Angeleno, Gaia, Queen Rosa, Royal Diamond, Ruby Crunch, Ruby Queen
VIII	<i>SeSh</i>	Black Diamond, Black Gold, Black Late, Earliqueen, <b>Laetitia</b> , Showtime, Souvenir, Black Late, John W.
IX	<i>SfSg</i>	Golden Japan, White Plum
X	<i>ShSk</i>	Howard Sun, Songold, Red Gold
XI	<i>ScSe</i>	Autum Giant, Black Splendor, <b>Casselman</b> , Late Santa Rosa, Royal Garner, Royal Zee, <b>Santa Rosa</b> , AU Rosa, <b>Rubirosa</b>
XII	<i>SbSe</i>	Pioneer, Sapphire, Flavor King, Black Jewell
XIII	<i>SeSf</i>	Primetime, Black Star
XIV	<i>SaSc</i>	Crisom Glo, White Queen
XVI	<i>SfSk</i>	Kelsey, Wickson
XVII	<i>SbSo</i>	Ambra, Olinda
XXI	<i>SeSk</i>	<b>Simka</b> , Simon

En negrita aparecen las variedades descritas como autocompatibles.

Laetitia, Rubirosa, Casselman, Nubiana, Simka y Zanzi Sun (Cuadro 1).

Hasta el momento se han determinado los alelos *S* de incompatibilidad de más de 200 variedades y se han caracterizado 26 grupos de incompatibilidad distintos (Guerra y Rodrigo, 2015), además de un grupo 0 denominado donador universal donde se recogen variedades con genotipo único y que pueden ser potencialmente polinizadoras de todas las variedades con las que coincidan en floración. En el Cuadro 1 se muestran las variedades más cultivadas en España distribuidas en sus correspondientes grupos de incompatibilidad.

**AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos INIA RFP2012-00017-C03-01, INIA RTA2014-00085-00 y por el Gobierno de Aragón (Grupo de investigación A-43).

**BIBLIOGRAFÍA**

De Nettancourt D. 2001. Incompatibility and Incongruity in Wild and Cultivated Plants, 2nd ed. Springer, Berlin.

Guerra M.E., Rodrigo J. 2015. Japanese plum pollination: A review. *Scientia Horticulturae* 197, 674-686.

Guerra M.E., Rodrigo J., López-Corrales M., Wünsch A. 2009. *S-RNase* genotyping and incompatibility group assignment by PCR and pollination experiments in Japanese plum. *Plant Breeding* 128, 304-311.

Hartmann W., Neumüller M. 2009. Plum Breeding, In: Jain, S.M., Priyadarshan, P.M. (Eds.), *Breeding Plantation Tree Crops: Temperate Species*. Springer Science, Stuttgart, Germany, pp. 161-231.

Okie W.R., Weinberger J.H. 1996. Plums, In: Janick, J., Moore, J.N. (Eds.), *Fruit Breeding*. Wiley J. and Sons, New York, pp. 559-607.

Rodrigo J., Guerra M.E. 2014. Cerezo y Ciruelo, In: Rural, Cajamar-Caja Rural (Ed.), *La fruticultura del siglo XXI en España*, España, pp. 107-122. <http://www.publicacionescajamar.es/pdf/series-tematicas/agricultura/la-fruticultura-del-siglo-xxi-en-espana-2.pdf>

Sedgley M., Griffin A.R. 1989. Sexual reproduction of tree crops. Academic Press, London.