

CONTROL DE LA APERTURA Y CIERRE DE LA FLOR DICÓGAMA DEL AGUACATE

J. Cuevas y C. Cabezas

Dept. Producción Vegetal. Universidad de Almería. 04120. Almería. España. Correo electrónico: jcuevas@ual.es

El aguacate es dicógamo. Su flor abre primero como femenina y, tras un cierre, lo hace como masculina. Estas fases de apertura y cierre de la flor regulan la exposición ordenada de los órganos reproductivos a insectos vectores. Aunque se conocen diferentes alteraciones del ciclo, escaso es el conocimiento sobre los órganos reguladores del movimiento de los tépalos y las consecuencias de su mal funcionamiento. En este trabajo analizamos estas consecuencias mediante la mutilación de nectarios, estaminodios, tépalos, estambres y pistilo. Los resultados indican que la mutilación de nectarios y estaminodios no alteró el ciclo dicógamo. La eliminación del tépalo afectó al estambre que se extendió más allá de la horizontal durante la primera apertura; consecuentemente este estambre retrasó su retracción, en ocasiones incompleta. Los cambios fueron menores durante la fase masculina. La eliminación del estambre alteró asimismo el comportamiento del tépalo. En algunas flores se observó que en ausencia de estambre en fase femenina, el tépalo no abría en fase masculina, mientras que adelantaba su cierre si el estambre se mutilaba en fase masculina. La eliminación temprana del pistilo adelantó el primer cierre, aunque no hubo cambios en la fase masculina. Las observaciones sugieren que el pistilo y los estambres controlan la apertura de la flor en sus respectivas fases, mientras que la posición y movimiento de los estambres durante los cierres estarían bajo control de los tépalos. Nuestras observaciones apuntan a factores endógenos ligados a la maduración de los órganos reproductivos como reguladores del ciclo floral del aguacate.

Palabras clave: fases sexuales, tépalos, pistilo, estambres, estaminodios, nectarios.

FLORAL ORGANS REMOVAL IN AVOCADO: OPENING AND CLOSING CONTROL

J. Cuevas and C. Cabezas

Dept. Producción Vegetal. Universidad de Almería. 04120. Almería. España. Correo electrónico: jcuevas@ual.es

Avocado flower opens twice: first as functional female, second acting as male. These phases of flower opening and closing control the orderly exposure of mature female and male organs to pollinators. Disorders of this flower behavior, as partial and single flower aperture, have been previously documented. However, little is known about the factors controlling movements of tepals and the

consequences of their malfunctioning on the function of pistil and stamens. By selective removal of tepals, stamens, nectaries, staminodes, and pistil, we explored organ-control of the avocado flower cycle. Nectary and staminode removal did not change the flower cycle. Early pistil removal advanced first closing, but no other changes were noticed later. Pistil removal during the male phase did not alter the flower cycle. Removal of tepals during the female phase conspicuously modified the angle of the corresponding stamen beyond horizontal and consequently delayed or made retraction incomplete during first closing. Lesser changes were detected when tepals removal was performed during the male phase. Stamen removal also modified movement of tepals. In a few cases when the stamen was cut in the female phase, the tepals did not open in the male phase. If the stamen was eliminated during the second opening, the tepals closing was advanced. These modifications suggest that female and male reproductive organs control the corresponding flower opening, whereas closure is mostly lead by tepals. Our observations also suggest that endogenous factors related to reproductive organ maturation rather than environmental cues control avocado flower cycle.

Key words: sexual phases, tepals, pistil, stamens, staminodes, nectaries.

INTRODUCCIÓN

El aguacate presenta dicogamia protogínica. En este inusual sistema reproductivo, las flores abren dos veces. El primer día, las flores abren en fase femenina, mientras que el segundo día abren como masculinas. Entre ambas fases, los tépalos cierran. Conspicuos movimientos de los órganos sexuales de la flor acompañan la apertura y cierre de los tépalos (Ish-Am and Eisikowitch, 1991). Durante la fase femenina la flor del aguacate presenta un estigma receptivo capaz de adherir granos de polen transportados por insectos. Por el contrario, los estambres, situados en la horizontal ligeramente por encima de los tépalos, están inmaduros y no liberan polen. El néctar es segregado por estaminodios. En la fase masculina, los tres estambres interiores rodean al pistilo, mientras que los seis externos se posicionan en un ángulo aproximado de 45°. En esta fase las anteras dehiscen a través de cuatro valvas, mientras que el estigma está comúnmente marchito. El néctar es producido ahora por los tres pares de verdaderos nectarios

Durante estudios previos realizados sobre 'Hass', 'Fuerte', 'Bacon' y 'Zutano', hemos observado desviaciones notables de este ciclo floral (Cabezas *et al*, 2003a), siendo las más sobresalientes flores que abrían tres veces o sólo una, flores con apertura de los tépalos incompleta o con falta de sincronización entre el despliegue de los tépalos y la dehiscencia de las anteras. A este respecto, muchas flores, especialmente de 'Zutano', alcanzaban la fase masculina sin cierre intermedio. En 'Hass' fue común encontrar flores con apertura incompleta de los tépalos. En este caso, durante la fase masculina solamente algunos tépalos se abrían, mientras que el resto continuaban plegados y los estambres correspondientes inmaduros y no dehiscentes (Figura 1). Estos tépalos y

estambres abrían al siguiente día extendiendo de este modo la duración de la fase masculina.

En este trabajo se analizan los cambios que se producen en la apertura y cierre de los tépalos y en la actividad de los órganos sexuales en respuesta a la eliminación selectiva de tépalos, estambres, nectarios, estaminodios y pistilo en flores de 'Hass'. El objetivo es obtener información sobre los factores endógenos y exógenos que controlan el característico ciclo floral del aguacate.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Una mutilación selectiva de órganos florales fue llevada a cabo sobre flores de 'Hass' en árboles cultivados en Almuñécar (Granada, España). En cada flor, la eliminación se realizó sobre un único tépalo, nectario, estambre, estaminodio o pistilo. Para identificar mejor los cambios producidos en la posición de los tépalos y en la actividad y situación de los órganos sexuales de la flor en respuesta al corte, se dejó una flor control intacta en la cercanía. Los cambios se registraron desde el momento de la intervención hasta el cierre definitivo de la flor. Especial atención se puso en el seguimiento de los cambios sobre los órganos vecinos al eliminado en los verticilos adyacentes. Para mayor facilidad en el seguimiento de la respuesta los órganos fueron identificados de acuerdo al diagrama que se presenta en la figura 2.

Las mutilaciones se realizaron normalmente sobre una muestra de 16 flores en cuatro momentos bien definidos del ciclo floral: al comienzo y final de las fases femenina y masculina (estados fenológicos F1f, F2f, F1m y F4m, respectivamente, descritos por Cabezas *et al*, 2003). La comparación de la respuesta durante la apertura y cierre de cada fase pretende determinar si diferentes mecanismos operan en estos dos procesos. La comparación realizada durante la fase femenina y masculina intenta observar los cambios en la identidad de los órganos implicados en cada una de estas fases. Es oportuno reseñar, además, que la mutilación durante la fase femenina permite más tiempo para que se expresen los cambios. Las flores se marcaron usando hilo de color rosa o azul en función al momento de intervención.

En el caso de tépalos y estambres se hizo una distinción entre la eliminación de los órganos en verticilos externos o internos, y en el caso de los estambre se compare la respuesta obtenida mediante la eliminación completa del estambre versus antera. Por último, sobre una muestra reducida se probó a eliminar el estigma y comparar los cambios con aquellos observados cuando se mutilo el pistilo por completo. El ensayo se realizó durante la plena floración de 2004 (mediados de abril). El corte se realizó utilizando un escalpelo afilado intentando no afectar a los órganos vecinos.

RESULTADOS

La mutilación de nectarios y estaminodios no produjo cambios aparentes en la apertura de la flor o en la expresión de las fases femenina o masculina. Esta

situación se repitió en todas las muestras con independencia del momento de intervención. Tampoco se advirtió un incremento apreciable en el néctar secretado por los órganos remanentes en respuesta a la mutilación.

Por el contrario, la eliminación de un tépalo al inicio de la fase femenina (estado F1f) modificó notablemente el ángulo de posicionamiento del estambre adyacente. En este momento, en ausencia de tépalo, el estambre progresó más allá de la horizontal (Figura 3), por lo que precisó más tiempo en su retracción. En algunas flores no se produjo un repliegue completo del estambre durante el primer cierre. Este efecto solo se produjo sobre el estambre vecino al tépalo eliminado, permaneciendo inalterados los restantes. Si la eliminación del tépalo se realizaba durante el final de la fase femenina (F2f), el repliegue se retrasaba o era incompleto (Figura 4). Cambios menores se observaron con la eliminación del tépalo durante la fase masculina, excepto en un caso en que se observó que el estambre quedó fuera durante el cierre definitivo. La dehiscencia de las anteras ocurrió con normalidad, mientras que la eliminación de los tépalos externos causó mayor respuesta que el corte de un tépalo interior. No todas las flores de la muestra expresaron los cambios de igual magnitud, en ocasiones porque la eliminación no fue completa, aunque en ocasiones las razones por las cuales no se expresaron los cambios no era obvia. Finalmente, es importante reiterar que en todos los casos el movimiento de los estambres tuvo lugar, aunque fuera de un modo alterado y tardío.

La mutilación de un estambre también produjo cambios notables sobre los tépalos, aunque en este caso los efectos no fueron inmediatos. Así cuando los estambres se eliminaban al comienzo de la fase femenina los tépalos abrían y cerraban sin aparentes cambios, aunque en la fase masculina el tépalo anexo al estambre eliminado mostró una llamativa falta de sincronización con los otros tépalos (Figura 5). En esta respuesta el filamento parece tener mayor influencia ya que la eliminación de la antera apenas modificó el movimiento del tépalo.

El corte del pistilo o sólo del estigma avanzó el primer cierre, pero no se apreciaron más cambios en la fase masculina subsiguiente. En contra de lo observado previamente, la eliminación del pistilo afectó a todos los tépalos por igual. No se observó más cambios sobre nectarios, estaminodios o estambres en respuesta a la mutilación del pistilo. La mutilación del pistilo durante la fase masculina no pareció cambiar nada.

DISCUSIÓN

A pesar de que el peculiar comportamiento de la flor del aguacate fue descrito hace mucho tiempo (Nirodi, 1922; Stout, 1923), nuestro conocimiento de los factores que controlan su ciclo floral es aún muy limitado. A este respecto, el patrón de apertura y cierre de la flor del aguacate y de actividad de sus vectores de polinización hacen suponer a Stout (1927) que la luz y la temperatura controlan los movimientos de los tépalos y estambres. Sin embargo, Papademetriou (1976), encuentra muy dudosa la influencia de la luz sobre la

apertura de la flor ya que en 'Hashimoto' y otros cultivares se observan flores que comienzan a abrir durante la noche. Lesley y Bringhurst (1951) por su parte observaron alguna relación entre la temperatura y la primera apertura (fase femenina) en 'Fuerte' (variedad tipo B). Aún más, Gazit y Degani (2002) señalan que flores aisladas de la panícula abren de igual modo en el laboratorio que en el campo, siempre que la temperatura sea la misma. De hecho se conoce que las bajas temperaturas retrasan el ciclo floral y causan repetidas aperturas de la flor en fase masculina (Sedgley y Grant, 1982). Lamentablemente, la interpretación de este hecho no ha ido más allá de los efectos térmicos (Stout, 1923), sin cuestionarse sobre las últimas causas del retraso en el despliegue de los tépalos.

En las pocas ocasiones en las cuales se ha estudiado el fenómeno de apertura y cierre repetido de las flores en la naturaleza se ha visto que es la temperatura y no la luz el factor ambiental determinante de este hecho (Tanaka *et al*, 1987; Von Hase *et al*, 2006). Van Hase *et al* (2006) han observado en algunas Aizoaceae y Neurodeceae una estrecha correlación entre la apertura de la flor y el ascenso de temperaturas en la mañana. En especies con flores de apertura vespertina (a menudo polinizadas por polillas nocturnas) la respuesta a la temperatura es justo la contraria, aunque no hemos encontrado en la literatura análisis detallado de este hecho. Es digno de mención que Von Hase *et al* (2006) observaron una menor asociación entre el descenso de la temperatura y el cierre de la flor que entre su ascenso y la apertura de la misma. Por esta razón, los autores señalan que sobre el cierre de la flor los factores endógenos deben ser más importantes que el clima.

Nuestros resultados sugieren que por el contrario los movimientos que caracterizan el peculiar ciclo del aguacate están en realidad bajo control endógeno. Así se puede concluir de nuestras observaciones que la eliminación del órgano femenino (pistilo) acorta la fase femenina (al provocar cierre de los tépalos), pero deja indemne la fase masculina. Por el contrario, la eliminación de los estambres durante la fase masculina reduce esta fase pero no altera la fase femenina. Aún más cuando el estambre se elimina lo suficientemente pronto (al comienzo de la fase femenina), los cambios no fueron inmediatos sino que se expresaron en su plenitud en la fase masculina modificando los movimientos de los tépalos. El freno al movimiento de los tépalos que hemos inducido al eliminar el estambre coincide con las observaciones de tépalos semi-cerrados cuando el estambre permanece inmaduro en la fase masculina (Cabezas *et al*, 2003). De modo que en contra de nuestra hipótesis no parece haber un único órgano regulador del ciclo de apertura y cierre de la flor, sino que el pistilo gobierna durante la fase femenina y los estambres durante la masculina, siendo los tépalos piezas importantes en el posicionamiento de los estambres.

En realidad no podía ser de otro modo. Como enfatizan Van Hase *et al* (2006), el movimiento de los pétalos ha de analizarse en el contexto de su función. Y está claro que la apertura y cierre de los tépalos del aguacate aseguran la exposición ordenada y secuencial de los órganos sexuales femeninos y masculinos cuando éstos alcanzan su madurez. En la fase femenina, cuando el pistilo está maduro y

receptivo es importante que los tépalos y estambres se desplieguen y dejen expedito el acceso al pistilo a los insectos vectores. Por el contrario, durante la fase masculina la posición de los estambres internos rodeando al pistilo, con los otros seis en un ángulo de 45° se facilita el contacto de las anteras con el cuerpo de los insectos. Es por ello, que una eficiente transferencia de polen exige un reposicionamiento de los estambres durante esta fase. La posición de los tépalos en la horizontal durante la apertura de ambas fases indica su clara función de pista de aterrizaje para los insectos, y su despliegue y repliegue no viene sino a coincidir con el patrón de actividad de los vectores de polinización.

Una vez que los principales órganos implicados en la regulación del ciclo floral del aguacate parecen identificados es posible plantear una investigación más amplia que realmente analice los importantes cambios sobre el éxito reproductivo que estas alteraciones conllevan. Por ejemplo, se puede analizar los efectos sobre el éxito paterno cuando algunos tépalos no abren, pues si bien esto alarga la duración de la fase masculina, limita la cantidad de polen disponible en cada momento. Las interferencias que ocurren entre la función femenina y masculina de la flor en aquellas flores sin cierre intermedio es también de interés. Por último, las consecuencias de la apertura repetida sobre la transferencia y deposición de polen en el estigma también merecen análisis.

CONCLUSIONES

La secuencia de apertura y cierre de la flor del aguacate controla la exposición ordenada de los órganos sexuales de la flor en su momento de madurez a los insectos vectores. Globalmente los resultados sugieren que la presencia del órgano reproductivo correspondiente controla cada fase floral, mientras que los tépalos gobiernan el despliegue y repliegue de los estambres. Nuestras observaciones también sugieren que los factores endógenos ligados a la maduración del pistilo y estambres son más importantes que el clima en el ciclo floral del aguacate. La correspondencia observada entre tépalo y estambre de verticilos contiguos corroborada en este estudio señala una estrecha comunicación entre ambos órganos. La corta vida de esta flor y su marcada dicogamia probablemente explican porque a diferencia de lo observado en otras especies, en aguacate es importante que el control de la exposición de los órganos sexuales de la flor a los insectos esté ligada a su maduración.

AGRADECIMIENTOS

Fabio Cabezas Prieto responsable de la Oficina Comarcal Agraria de la Junta de Andalucía en Almuñécar (Granada, España) fue de gran ayuda en las operaciones de campo. Agrobio financió parcialmente esta investigación y Avocadosource facilitó rápido acceso a artículos clásicos que constituyen una fuente de información muy valiosa.

BIBLIOGRAFÍA

- CABEZAS C., HUESO J. J. Y CUEVAS, J. 2003a. Anomalías morfológicas y fisiológicas del ciclo floral del aguacate en la Costa de Almería. Actas V Congreso Mundial del Aguacate 1: 231-236.
- CABEZAS C., HUESO J. J. Y CUEVAS, J. 2003b. Identificación y descripción de los estados fenológicos-tipo del aguacate (*Persea americana* Mill.). Actas V Congreso Mundial del Aguacate 1: 237-242.
- GAILLARD J. P. 1987. L'avocatier, sa culture, ses produits. Techniques Agricoles et Productions Tropicales. Ed. Maisonneuve et Larose et ACCT. Paris. 414 pp.
- GAZIT S. Y DEGANI, C. 2002. Reproductive biology in avocado. In: A.W. Whiley, B. Schaffer y B.N. Wolstenholme (eds.), Avocado: botany, production and uses. CABI Publishing Wallingford: 101-133.
- ISH-AM G., Y EISIKOWITCH D. 1991. New insight into avocado flowering in relation to its pollination. Calif. Avoc. Soc. Yrbk 75: 125–137.
- LESLEY J. W. Y BRINGHURST R. S. 1951. Environmental conditions affecting pollination of avocados. Calif. Avoc. Soc. Yrbk 36: 169–173.
- NIRODI B. S. 1922. Investigations in avocado breeding. Calif. Avoc. Assoc. Ann Rept 7: 65-78.
- PAPADEMETRIOU M. K. 1976. Some aspects of the flower behavior, pollination and fruit set of avocado (*Persea americana* Mill.) in Trinidad. Calif. Avoc. Soc. Yrbk 60: 106–152.
- SEDGLEY M., Y GRANT W. J. R. 1982. Effect of low temperature during flowering on floral cycle and pollen tube growth in nine avocado cultivars. Sci. Hortic. 18: 207-213.
- STOUT A. B. 1923. A study in cross-pollination of avocado in Souther California. Calif. Avoc. Assoc. Ann Rept 8: 106–152.
- STOUT A. B. 1927. The flower behaviour of avocado. Fla. Agric. Expt. Sta. Bull. 257.
- TANAKA O., WADA H., YOKOYAMA T., Y MURAKAMI H. 1987. Environmental factors controlling capitulum opening and closing of dandelion, *Taraxacum albidum*. Plant Cell Physiol. 28: 727-730.
- VON HASE A., COWLING R. M., Y ELLIS, A.G. 2006. Petal movement in cape wildflowers protects pollen from exposure to moisture. Plant ecology 184: 75-87.



Figura 1. Apertura irregular en fase masculina. Algunos tépalos y estambres no se despliegan durante la segunda apertura del ciclo floral.

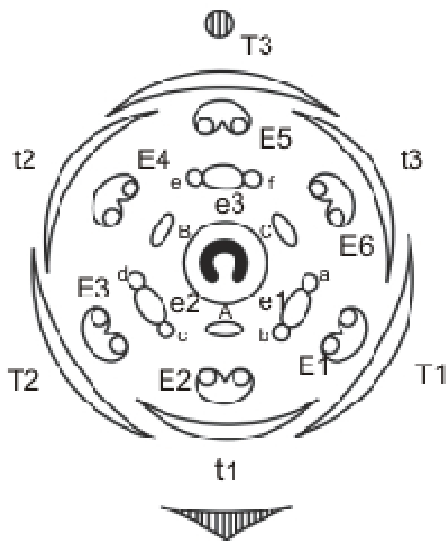


Figura 2. Diagrama floral del aguacate (adaptado de Gaillard, 1987). Tépalos exteriores (T1,2,3), tépalos interiores (t1,2,3), estambres del verticilo exterior (E1,2,3,4,5,6), estambres del verticilo interior (e1,2,3), nectarios (a,b,c,d,e,f) y estaminodios (A, B, C).



Figura 3. Tépalos externos mutilados al inicio de la fase femenina (subestado F1f). El estambre correspondiente supera la perpendicular al eje de la flor.



Figura 4. Tépalos externos mutilados durante la fase femenina (subestado F2f). El grupo de estambres retrasa su regreso o permanecen en el exterior.



Figura 5. Estambre del verticilo exterior mutilado durante la fase femenina (F2f). Al inicio de la fase masculina se aprecia la apertura no sincronizada del tépalo correspondiente.