



PRINCIPADO DE ASTURIAS

---

CONSEJERIA DE AGRICULTURA

***PERÍODO EFECTIVO DE POLINIZACIÓN  
EN KIWI (*Actinidia deliciosa*):  
DURACIÓN Y FACTORES***

**SERIE  
TECNICA  
Nº. 3 / 96**

Centro de Investigación Aplicada  
Y tecnología Agroalimentaria (CIATA)



**PERÍODO EFECTIVO DE POLINIZACIÓN  
EN KIWI (*Actinidia deliciosa*):  
DURACIÓN Y FACTORES**

*Publicado en: Journal of the American Society for Horticultural Science 120(2):199-202.1995. Bajo el título: Stigmatic Receptivity Limits The Effective Pollination Period In Kiwifruit*

**AUTORES:**

**M<sup>a</sup> VICTORIA GONZÁLEZ GONZÁLEZ  
MANUEL COQUE FUERTES  
MARÍA HERRERO ROMERO**

**SERIE  
TÉCNICA  
Nº. 3 / 96**

**DEPARTAMENTO DE HORTOFRUCTICULTURA**

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN APLICADA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA  
(CIATA)**

*Edita: Unidad de Transferencia y Coordinación del CIATA  
Consejería de Agricultura del Principado de Asturias*

*D.L.: AS-3273-96*

## **PERIODO EFECTIVO DE POLINIZACION EN KIWI (*Actinidia deliciosa*): DURACION Y FACTORES**

---

**M<sup>a</sup>. Victoria González González y Manuel Coque Fuertes**

Departamento de Hortofruticultura. Centro de Investigación Aplicada y Tecnología Agroalimentaria.  
Apartado 13. 33300 Villaviciosa, Asturias.

**María Herrero Romero**

Unidad de Fruticultura, S.I.A.-D.G.A., Campus de Aula Dei, Apdo. 727, 50080 Zaragoza.

### **RESUMEN**

Se determinó el período efectivo de polinización en kiwi (*Actinidia deliciosa* (Chev.) Liang y Ferguson), y se evaluaron los factores que lo determinan. El período efectivo de polinización, medido como la capacidad para fructificar de flores de diferentes edades polinizadas manualmente, fue de cuatro días. La polinización de flores de cinco días produjo una fuerte caída de la fructificación. Esta fue nula cuando se polinizaron flores de siete días. El crecimiento del tubo polínico no pareció ser el factor limitante, puesto que los tubos crecieron rápidamente y alcanzaron la base del estilo dos días después de la polinización, y los óvulos un día más tarde. Los óvulos permanecieron viables durante los siete días siguientes a la antesis, y degeneraron visiblemente a los once días de la antesis. La receptividad del estigma se determinó como la capacidad de las flores de distintas edades para permitir la germinación del polen después de la polinización manual. La duración de la receptividad del estigma coincide estrechamente con el período efectivo de polinización. Así, parece que la receptividad del estigma es el principal factor responsable del corto período efectivo de polinización de esta especie.

**PALABRAS CLAVE:** Receptividad estigmática, fructificación, Kiwi, período efectivo de polinización.

### **INTRODUCCIÓN**

El kiwi es un cultivo altamente dependiente de la polinización puesto que el peso del fruto está estrechamente relacionado con el número de semillas (Pyke y Alspach, 1986). La polinización, sin embargo, se ve dificultada por la naturaleza dioica de esta especie. Mientras el viento contribuye parcialmente a la transferencia de polen (Craig y Stewart, 1988), la actividad de las abejas incrementa claramente la fructificación (Clinch, 1984). La posibilidad de realizar polinizaciones artificiales también se ha considerado (Hopping y Hacking, 1983). El éxito de la polinización, fecundación del óvulo, y fructificación dependen de la receptividad de la flor durante los pocos días que siguen a la antesis. En este contexto, es crucial identificar el principal factor que limita el período efectivo de polinización (PEP) y sus implicaciones sobre la cosecha. Williams (1965) introdujo el concepto de PEP y analizó las tasas de crecimiento del tubo polínico, la longevidad del óvulo y la receptividad del estigma como limitantes del PEP en manzano. Este autor encontró, bajo las condiciones de su experimento, que la duración del PEP venía determinada por la longevidad del óvulo menos el tiempo necesario para el crecimiento del tubo polínico. Aunque también había previsto que, bajo condiciones de temperatura más favorables, el período receptivo de los estigmas sería probablemente un factor determinante del período efectivo de polinización.

Aunque el trabajo de Williams se realizó sobre manzano, el PEP también se ha asociado con problemas de fructificación en otras especies como peral (Jaumien, 1968), ciruelo (Thompson y Liu, 1973), y cerezo (Stösser y Anvari, 1982). Estas dificultades han sido atribuidas a un lento crecimiento de los tubos polínicos en el estilo y/o a una corta viabilidad de los óvulos (Egea *et al.*, 1991). Durante estos estudios,

también tomó forma, debido a evidencias experimentales, la idea de que la receptividad estigmática también pudiera dificultar la fructificación (Egea *et al.*, 1991; Egea y Burgos, 1992; Herrero, 1983). En el presente trabajo ha sido determinado el PEP del kiwi; y el crecimiento del tubo polínico, el desarrollo del óvulo y la receptividad del estigma han sido evaluados para dilucidar el principal factor limitante del PEP de esta especie en nuestras condiciones de cultivo.

## MATERIAL Y METODOS

### Material vegetal

En este estudio se utilizaron viñas 'Hayward' de ocho años. Las polinizaciones se realizaron con polen del macho C seleccionado por ser un buen polinizador de 'Hayward' en nuestras condiciones culturales (González *et al.*, 1994). El polen se obtuvo de flores masculinas recogidas un día antes de la antesis, considerando la antesis como el día de apertura de la flor. Las anteras se secaron a temperatura ambiente durante 24 h. El polen se filtró con una fina malla (0,26 mm<sup>2</sup> diámetro de poro) para limpiarlo de anteras y otras impurezas. Las flores femeninas se aislaron embolsándolas un día antes de la antesis para prevenir polinizaciones incontroladas.

### Período efectivo de polinización

Para evaluar el PEP se siguió el procedimiento utilizado por Williams (1970) para manzano. Grupos de 25 flores femeninas previamente aisladas se polinizaron manualmente 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 días después de la antesis. Los datos de fructificación de estas flores se tomaron 30 días después de la antesis. Los datos se analizaron usando el Test de Rango Múltiple de Duncan.

### Crecimiento del tubo polínico

Flores aisladas se polinizaron a mano en la antesis y se estudió el crecimiento del tubo polínico con microscopios de fluorescencia y de barrido. Cinco flores femeninas se fijaron diariamente en formaldehído:ácido acético: etanol 70% (1:1:18; FAA) (Johansen, 1940) durante los 15 días siguientes a la polinización. El crecimiento del tubo polínico se siguió en el estilo y el estigma con preparaciones de *squash* teñidas con azul de anilina para microscopía de fluorescencia (Linskens y Esser, 1957; Jefferies y Belcher, 1974). La penetración del tubo polínico en el óvulo se detectó usando la misma técnica.

Para microscopía electrónica de barrido, flores polinizadas en antesis se fijaron durante los cinco días siguientes a la polinización en glutaraldehído 3% en tampón fosfato, se deshidrataron en una serie de alcoholes, se secaron por punto crítico y se cubrieron de oro. Las muestras así preparadas se observaron en un microscopio Philips P 500.

### Receptividad del estigma

Para evaluar la receptividad del estigma, las flores aisladas justo antes de la antesis se polinizaron a diferentes intervalos de tiempo, como en la determinación del PEP; es decir, las flores se polinizaron 1, 2, 3, 4, 5, 6 ó 7 días después de la antesis. Un día después de la polinización las flores se fijaron en FAA. La capacidad para permitir la germinación del polen se evaluó sobre estas flores mediante *squash* de estigma y posterior tinción con azul de anilina, para su observación al microscopio de fluorescencia. Los datos se analizaron usando el Test de Rango Múltiple de Duncan.

### Desarrollo del óvulo

Para evaluar el desarrollo del óvulo, las flores se aislaron justo antes de la antesis; un grupo de ellas fue polinizado en antesis, y otro grupo se dejó sin polinizar. Diez flores polinizadas y diez sin polinizar se

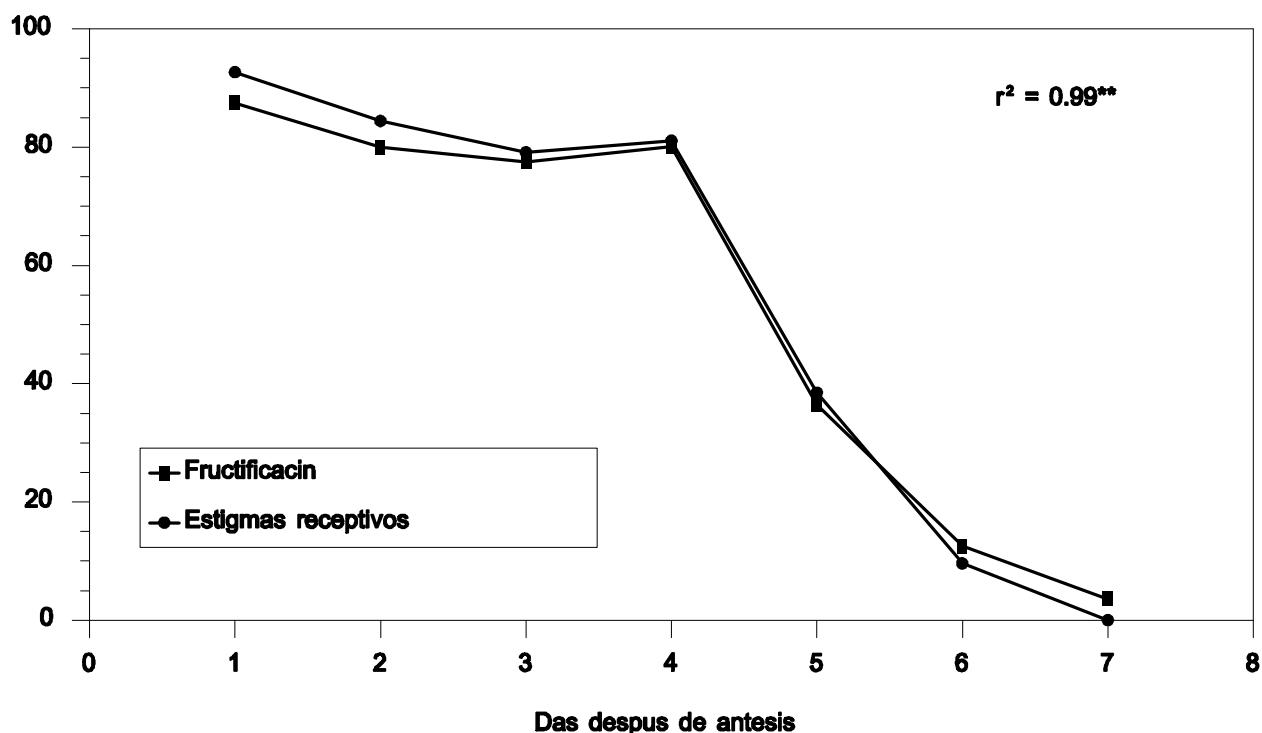
fijaron diariamente en FAA durante los 15 días siguientes a la antesis. A continuación se deshidrataron e incluyeron en una matriz de parafina, y se cortaron en secciones de 10  $\mu\text{m}$  que se tiñeron con diversos colorantes: azul de anilina; safranina, cristal violeta y verde rápido (Gerlach, 1969); y PAS seguido de azul de toluidina (modificado de Feder y O'Brien, 1968). Estas muestras ya teñidas se observaron con un microscopio óptico.

## RESULTADOS

### Determinación del PEP

La fructificación después de la polinización manual fue muy alta, alrededor del 80% durante los primeros cuatro días que siguieron a la antesis. Sin embargo, cuando las flores se polinizaron cinco días después de la antesis, la fructificación cayó hasta el 36% ( $P \leq 0,05$ ). En flores polinizadas siete días después de la antesis la fructificación fue nula. Por tanto, el PEP se limitó a los cuatro días siguientes a la antesis (Figura 1).

#### Porcentajes



**Figura 1.- Correlación entre porcentajes de fructificación y de estigmas receptivos en flores polinizadas 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 días después de antesis. \*\*Correlación significativa  $P < 0.01$ .**

### Receptividad del estigma

En flores polinizadas durante los cuatro días que siguieron a la antesis, la receptividad del estigma se mantuvo alrededor del 84% y decreció bruscamente en flores polinizadas a partir del quinto día, hasta ser nula en las polinizadas el séptimo día después de la antesis. Cuando los datos de receptividad estigmática se confrontaron con los de fructificación, las dos curvas concordaron estrechamente (Figura 1) ( $r^2=0,99$ ).

### Crecimiento del tubo polínico y desarrollo del óvulo

Los granos de polen germinaron en el estigma (Figura 2A) y el tubo polínico inició su crecimiento alcanzando la base del estilo dos días después de la polinización (Figura 2B), y observándose los primeros óvulos fecundados tres días después de la polinización (Figura 2C). Cuando se produjo la llegada de los tubos polínicos el óvulo ya estaba maduro, observándose el saco embrionario con la célula huevo, dos sinérgidas y uno o dos núcleos polares (Figura 2D). En flores sin polinizar, los óvulos no mostraron signos de degeneración siete días después de la antesis (Figura 2E); mientras que a los 11 días se observaron totalmente degenerados (Figura 2F), con el saco embrionario vacío y apergaminado.

## DISCUSION

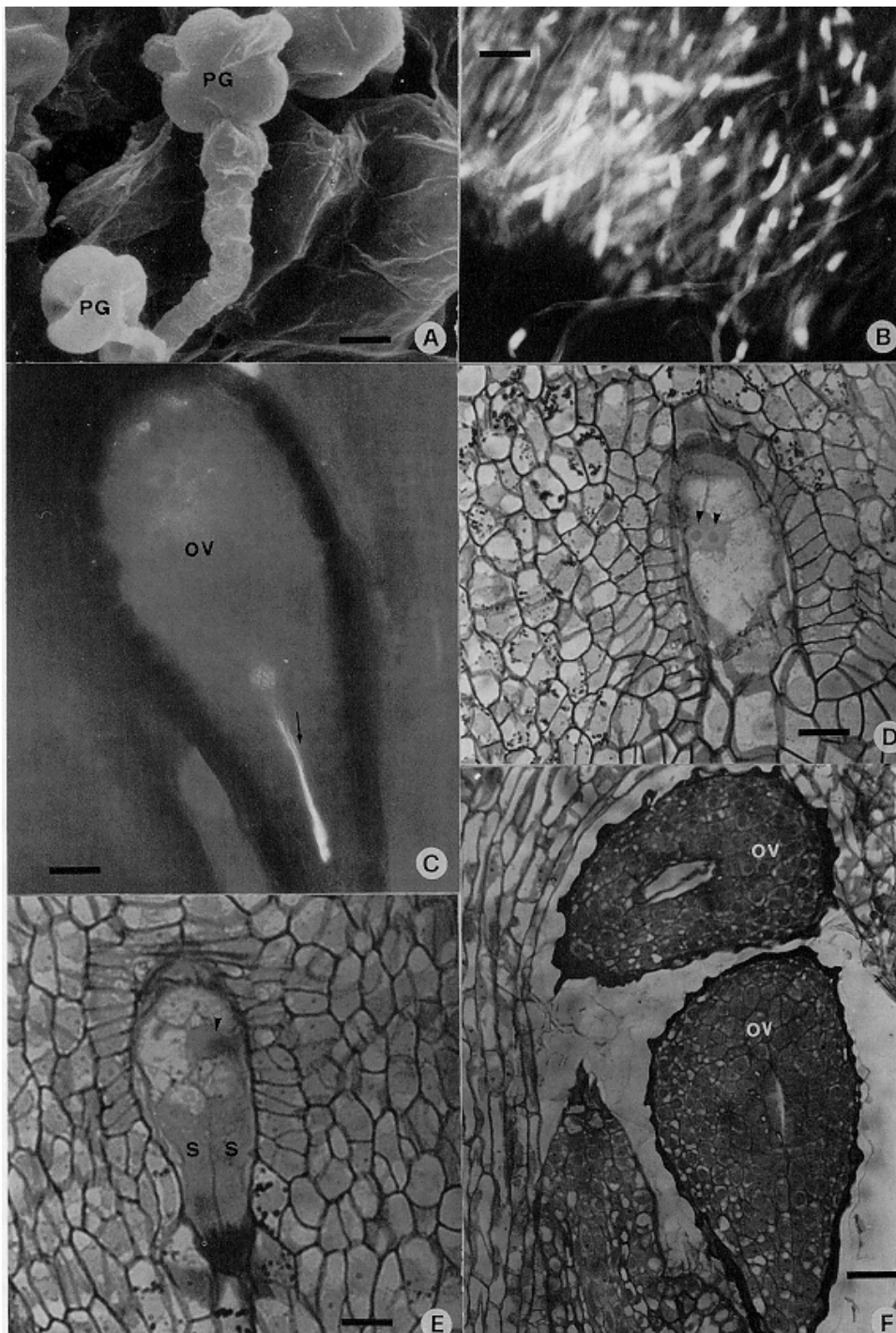
El PEP del kiwi en nuestras condiciones es de cuatro días y parece estar limitado por la receptividad del estigma. La tasa de crecimiento del tubo polínico no parece ser responsable de este corto PEP, puesto que los tubos crecen rápidamente en esta especie. Esto puede ser debido a una temperatura óptima para el crecimiento del tubo polínico durante el período de floración (15°C como temperatura media y 20°C de máxima), puesto que la temperatura tiene un claro efecto en el crecimiento del tubo polínico (Williams, 1970).

La viabilidad del óvulo ha sido responsable de limitar el PEP en numerosas especies (Thompson y Liu, 1973; Stösser y Anvari, 1982; Burgos y Egea, 1993). Esta situación, aunque tiene un claro componente genético pues existen cultivares más proclives que otros a tener una reducida viabilidad del óvulo (Jaumien, 1968), también se ve claramente afectada por el estado nutricional del árbol. Así, Williams (1965) describió un incremento en el PEP del cultivar '*Cox's Orange Pippin*' de manzano asociado con una prolongada viabilidad del óvulo en flores tratadas con nitrógeno (aplicado con spray) en años anteriores. Una situación similar se ha descrito para pera '*Comice*', en la cual una aplicación de putrescina con spray incrementó la fructificación debido a la prolongación de la viabilidad del óvulo (Crisosto *et al.*, 1988). En el kiwi, los óvulos no muestran signos anatómicos de degeneración durante los siete días que siguen a la antesis y, además, la degeneración del estigma precede a la del óvulo. Esto puede estar relacionado con el hecho de que, como en otras especies, la maduración ocurre en un sentido basipétalo, es decir, empieza en el estigma y termina en el ovario (Dickinson *et al.*, 1982; Herrero y Arbeloa, 1989).

La fuerte coincidencia entre el patrón de fructificación y el de receptividad estigmática en el kiwi indica que el PEP está limitado por la receptividad del estigma. El estigma es receptivo solamente durante los primeros pocos días que siguen a la antesis. De hecho, en esta especie el órgano reproductivo femenino parece estar disponible para el proceso reproductivo desde el momento de apertura de la flor, y esta disponibilidad se ha interpretado como la responsable de su alto éxito reproductivo (González *et al.*, 1996). Se ha demostrado que la limitada receptividad estigmática en la antesis ha dificultado la fructificación durante el corto PEP en cultivares de peral (Herrero, 1983) y albaricoque (Egea *et al.*, 1991). La situación aquí descrita en el kiwi recuerda la del albaricoque, quizá debido a las altas temperaturas registradas en ambos casos durante la floración.

La pregunta de qué hace al estigma receptivo al polen permanece aún sin contestar. El comienzo de la receptividad estigmática parece estar asociado con la producción de secreción estigmática, la cual aporta el medio adecuado para sustentar la germinación del polen (Herrero y Dickinson, 1981). También parece estar asociada con actividad esterasa (Matson *et al.*, 1974; Bernhardt *et al.*, 1980) y peroxidasa (Galen y Plowright, 1987); sin embargo, se ha hecho poco trabajo para determinar qué hace que el estigma pierda su receptividad. En kiwi, la pérdida de germinabilidad del polen en el estigma puede ser debida a la pérdida de integridad de las células papilares del estigma, lo que puede causar liberación de contenidos celulares en el exudado estigmático, alterando de esa manera el medio y bloqueando la germinación del polen (González *et al.*, 1995).





**Figura 2.-** Desarrollo del tubo polínico y del óvulo. (A) Granos de polen germinados (PG) en el estigma 1 día después de la polinización. Microscopio Electrónico de Barrido. Barra=6  $\mu$ m. (B) Tubos polínicos en la base del estilo 2 días después de la polinización. Preparaciones de squash teñidas con azul de anilina. Barra=20  $\mu$ m. (C) Tubo polínico (flecha) penetrando en el óvulo (ov) 3 días después de la polinización. Sección de parafina de 10  $\mu$ m teñida con azul de anilina. Barra=125  $\mu$ m. (D) Saco embrionario maduro de una flor no polinizada 3 días después de antesis; se observan los dos núcleos polares (cabeza de flecha). Sección de Historesina de 2  $\mu$ m teñida con PAS-azul de toluidina. Barra=50  $\mu$ m. (E) Saco embrionario no degenerado de una flor no polinizada 7 días después de la antesis; se observan las dos sinérgidas (s) y un núcleo polar (cabeza de flecha). Sección de Historesina de 2  $\mu$ m teñida con PAS-azul de toluidina. Barra=50  $\mu$ m. (F) Dos óvulos degenerados (ov) de una flor no polinizada 11 días después de antesis. Sección de Historesina de 2  $\mu$ m teñida con PAS-azul de toluidina. Barra=125  $\mu$ m.

Este trabajo muestra un corto PEP para 'Hayward'. Una situación similar se ha descrito bajo condiciones de cultivo diferentes (Galimberti et al., 1987, 1988), indicando que podría ser una característica general del cultivar. Desde un punto de vista agrícola, el período de efectividad de la polinización es muy reducido y cualquier alteración de las condiciones climáticas que dificulte la polinización puede tener un grave efecto sobre la cosecha final. La duración de la receptividad estigmática coincide estrechamente con el período efectivo de polinización, determinado a través de la fructificación. Así pues, parece que la receptividad estigmática es el principal factor responsable del corto período efectivo de polinización de esta especie en nuestras condiciones de cultivo.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos a los profesores Dr. Ricardo Sánchez Tamés y Dr. Roberto Rodríguez del Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad de Oviedo el habernos dejado utilizar las instalaciones y equipos de su laboratorio. A Marta Ciordia por cedernos los datos meteorológicos, y a José Molina por su asistencia fotográfica. También agradecemos al INIA la concesión de una beca a M<sup>a</sup> Victoria González para la realización de su Tesis Doctoral. La financiación económica corrió a cargo del INIA (Proyectos 2193 y 8559) y del CICYT (Proyecto 0739).

## BIBLIOGRAFÍA

- BERNHARDT, P.; KNOX, R.B.; CALDER, D.M. 1980. Floral biology and self-incompatibility in some Australian mistletoes of the genus *Amyema* (*Loranthaceae*). *Australian Journal of Botany* 28: 437-451.
- BURGOS, L.; EGEA, J. 1993. Apricot embryo-sac development in relation to fruit set. *Journal of Horticultural Science* 68: 203-208.
- CLINCH, P.G. 1984. Kiwifruit pollination by honey bees. 1. Tauranga observation 1978-81. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture* 12: 29-38.
- CRAIG, J.L.; STEWART, A.M. 1988. A review of kiwifruit pollination: where to next?. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture* 16: 385-399.
- CRISOSTO, C.H.; LOMBARD, P.B.; SUGAR, D.; POLITO, V.S. 1988. Putrescine influences ovule senescence, fertilization time, and fruit set in 'Comice' pear. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 113: 708-712.
- DICKINSON, H.G.; MORIARTY, J.; LAWSON, J. 1982. Pollen-pistil interaction in *Lilium longiflorum*: the role of the pistil in controlling pollen tube growth following cross and self pollination. *Proceeding Royal Society London B* 215: 45-62.
- EGEA, J.; BURGOS, L.; GARCIA, J.E.; EGEA, L. 1991. Stigma receptivity and style performance in several apricot cultivars. *Journal of Horticultural Science* 66: 19-25.
- EGEA, J.; BURGOS, L. 1992. Effective pollination period as related to stigma receptivity in apricot. *Scientia Horticulturae* 52: 77-83.
- FEDER, N.; O'BRIEN, T.P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* 43: 11-22.

- GALEN, C.; PLOWRIGHT, R.C. 1987. Testing the accuracy of using peroxidase activity to indicate stigma receptivity. *Canadian Journal of Botany* 65: 107-111.
- GALIMBERTI, P.; MARRO, M.; YOUSSEF, J. 1987. Periodo utile d'impollinazione in *Actinidia chinensis* (Planch). *Rivista di Frutticoltura* 49: 51-54.
- GALIMBERTI, P.; MARRO, M.; YOUSSEF, J. 1988. Periodo utile d'impollinazione in *Actinidia deliciosa*. II Contributo. *Rivista di Frutticoltura* 50: 71-74.
- GERLACH, D. 1969. A rapid safranin-crystal violet-light green staining sequence for paraffin sections of plant materials. *Stain Technology* 44: 210-211.
- GONZALEZ, M.V.; COQUE, M.; HERRERO, M. 1994. Pollinator selection in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Journal of Horticultural Science* 69: 697-702.
- GONZALEZ, M.V.; COQUE, M.; HERRERO, M. 1995. Papillar integrity as an indicator of stigmatic receptivity in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Journal of Experimental Botany* 46(283): 263-269.
- GONZALEZ, M.V.; COQUE, M.; HERRERO, M. 1996. Pollen-pistil interaction in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*; *Actinidiaceae*). *American Journal of Botany* 83(2): 148-154.
- HERRERO, M. 1983. Factors affecting fruit set in 'Agua de Aranjuez' pear. *Acta Horticulturae* 139: 91-96.
- HERRERO, M.; ARBELOA, A. 1989. Influence of the pistil on the pollen tube kinetics in peach (*Prunus persica*). *American Journal of Botany* 76: 1441-1447.
- HERRERO, M.; DICKINSON, H.G. 1981. Ultrastructural and physiological differences between buds and mature flowers of *Petunia hybrida* prior to and following pollination. *Planta* 148: 138-145.
- HOPPING, M.E.; HACKING, N.J.A. 1983. A comparison of pollen application methods for the artificial pollination of kiwifruit. *Acta Horticulturae* 139: 41-50.
- JAUMIEN, F. 1968. The causes of poor bearing of pear trees of the variety 'Doyenne du Comice'. *Acta Agrobotany* 21: 75-106.
- JEFFERIES, C.J.; BELCHER, A.R. 1974. A fluorescent bightener used for pollen tube identification *in vivo*. *Stain Technology* 49: 99-202.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill, New York.
- LINSKENS, H.F.; ESSER, K. 1957. Über eine spezifische anfärbung der pollenschläuche und die zahl kallosapropfen nach selbstung und fremdung. *Naturwissenschaften* 44: 16.
- MATSON, O.; KNOX, R.B.; HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y. 1974. Protein pellicle of stigmatic papillae as a possible recognition site in incompatibility reactions. *Nature* 247: 298-300.
- PYKE, N.B.; ALSPACH, P.A. 1986. Inter-relations on the pollination of chinese gooseberries variety 'Hayward'. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture* 2: 455-458.
- STÖSSER, R.; ANVARI, S.F. 1982. On the senescence of ovules in cherries. *Scientia Horticulturae* 16: 29-38.

- THOMPSON, M.M.; LIU, I.J. 1973. Temperature, fruit set and embryo sac development in 'Italian' prune. *Journal of American Society for Horticultural Science* 98: 193-197.
- WILLIAMS, R.R. 1965. The effect of summer nitrogen applications on the quality of apple blossom. *Journal of Horticultural Science* 40: 31-41.
- WILLIAMS, R.R. 1970. Techniques used in fruit set experiments, p. 57-61. En: R.R. Williams y D. Wilson (eds.). *Towards regulated cropping*. Grower Books, London.





PRINCIPADO DE ASTURIAS

CONSEJERIA DE AGRICULTURA

**Centro Investigación Aplicada  
y Tecnología Agroalimentaria (CIATA).**

*Unidad de Transferencia y Coordinación*

Aptdo. 13 – 33300 Villaviciosa – Asturias (España)

Telf. 985890066 – Fax: 985891854

Email: [seridavilla@serida.org](mailto:seridavilla@serida.org)