

SELECCIÓN DE POLINIZADORES PARA MANZANO 'AGUA NUEVA II'

T. Cruz-Hernández¹; E. Avitia-García²; J. P. Cruz-Hernández²

¹Centro Regional Universitario del Anáhuac, Universidad Autónoma Chapingo, C.P. 56230.
Chapingo, Estado de México. México.

²Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo.
Chapingo, Estado de México. C. P. 56230. México. (¹Autor responsable).

RESUMEN

Se utilizaron árboles de manzano 'Agua Nueva II' injertados sobre el portainjerto MM106. El sistema de conducción fue en espaldera, con distanciamientos entre plantas de 2, 3 y 4 m. Se evaluaron como polinizadores a los manzanos 'Anna', 'Elba', 'Ma'ayan' y 'Agua Nueva II' (autopolinización), además de un tratamiento de polinización libre. Se establecieron tres experimentos: en el Experimento 1 se colocaron ramas con flores de cada uno de los polinizadores, dentro de las copas de los árboles del manzano 'Agua Nueva II', mientras que en los Experimentos 2 y 3 se hizo polinización manual. El período de floración del manzano 'Ma'ayan' fue el que más se traslapó con el de 'Agua Nueva II' y se encontró que los cultivares Anna, Elba y Ma'ayan son compatibles con 'Agua Nueva II', al presentar de 10.7 a 18.7; 12.9 y de 13.4 a 19.0 % de amarre de frutos, respectivamente. En el cultivar Agua Nueva II se observó una respuesta de autoincompatibilidad, al presentar entre 0 y 0.84 % de amarre de frutos después de la autopolinización.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: *Malus domestica* Borkh., autoincompatibilidad, polinización, floración, amarre de fruto.

SELECTION OF POLLINATORS FOR 'AGUA NUEVA II' APPLE

SUMMARY

This study was conducted to evaluate the apples 'Anna', 'Elba', 'Ma'ayan', and 'Agua Nueva II' (self-pollination) as pollinators. 'Agua Nueva II' apple trees grafted onto the rootstock MM106 were used. Conduction was a trellis system, with distances between plants of 2, 3, and 4 m. Three experiments were set up: in Experiment 1 branches with flowers from each of the pollinators were placed inside the crowns of the 'Agua Nueva II' trees, while in Experiments 2 and 3 pollination was done manually. The flowering period of 'Ma'ayan' apple was that which best overlapped with that of 'Agua Nueva II', and it was found that the cultivars 'Anna', 'Elba', and 'Ma'ayan' are compatible with 'Agua Nueva II.' with 18.7; 12.9 y de 13.4 a 19.0 % fruit set, respectively. In the cultivar Agua Nueva II, a response of self-incompatibility was found, with between 0 and 0.85 % fruit set after self-pollination.

ADDITIONAL KEY WORDS: *Malus domestica* Borkh., self-incompatibility, pollination, flowering, fruit set.

INTRODUCCIÓN

El manzano es una especie frutal que se originó en regiones de clima templado (Brown, 1975); sin embargo, ha sido introducido a regiones con climas subtropicales y tropicales en donde ha tenido problemas de adaptación, manifestando algunos síntomas como: retraso en la brotación de yemas, dominancia apical, crecimiento vigoroso de brotes, formación reducida de espolones, caída de yemas, fructificación tardía y reducción severa de la cosecha (Luis-Aguilar, 1982).

En las regiones productoras de manzano en México (Chihuahua, Coahuila, Durango y Puebla) se observan la

mayoría de los problemas anteriormente descritos, por lo cual frecuentemente se hace uso de sustancias químicas (estimuladores de la brotación) o se recurre a la selección de mutantes naturales que presentan un menor requerimiento de frío; tal es el caso del manzano 'Agua Nueva II', que corresponde a un mutante derivado de 'Golden Delicious' y que fue observado e identificado por primera vez en una huerta comercial localizada en la región de Agua Nueva, en el estado de Coahuila, México. Dicho cultivar presenta las mismas características de fruto que 'Golden Delicious', pero sólo requiere de 500 horas frío para obtener una buena brotación (Ramírez y Mata, 1987).

Por otro lado, la incapacidad de una planta para formar semillas cuando es autopolinizada, a pesar de la presencia de óvulos y polen viables, es un fenómeno común conocido como autoincompatibilidad (Brewbaker, 1957). Hay dos sistemas de autoincompatibilidad: homomórfica y heteromórfica. En el primero, no hay una asociación entre la incompatibilidad y la morfología floral; mientras que en el segundo, la morfología del androceo y del gineceo tienen relación con el sitio de incompatibilidad (Helsop-Harrison, 1975).

La expresión de la autoincompatibilidad en el tipo esporofítico es determinada por una interacción entre el fenotipo del polen progenitor y el del gineceo. El sitio de inhibición de este tipo de incompatibilidad se encuentra en el estigma (Khan y DeMason, 1986).

En la autoincompatibilidad gametofítica, la expresión de los alelos de incompatibilidad involucra una interacción entre el tejido haploide del microgametofito y los tejidos diploides del gineceo. En el sistema gametofítico el sitio de rechazo de los tubos polínicos varía del estigma al ovario, dependiendo de la especie y el grado de incompatibilidad. Para entender dicha interacción es necesario conocer el tiempo y la localización de los tubos polínicos dentro del estilo y el ovario (Helsop-Harrison, 1975; Khan y DeMason, 1986).

La presencia de autoincompatibilidad gametofítica es bien conocida en manzano. Así, Griggs (1970) señaló que todos los cultivares comerciales de manzano presentan algún grado de autoincompatibilidad; de esta manera se ha clasificado al grupo 'Golden Delicious' como completamente autoincompatible.

En la Sierra Norte de Puebla, México, recientemente se introdujo el manzano 'Agua Nueva II', el cual ha desarrollado satisfactoriamente y, aunque tiene el inconveniente de amarrar pocos frutos, por las características de la región se considera que puede ser un buen cultivar, ya que produce frutos de buena calidad y es factible de cosecharse antes que en las principales regiones productoras del país.

En las huertas establecidas con 'Agua Nueva II', se ha observado que cuando su floración coincide con la floración de algún otro cultivar, el amarre de frutos se incrementa, lo que lleva a pensar en la existencia del fenómeno de autoincompatibilidad; es por ello que con este trabajo se planteó conocer la influencia de diferentes fuentes de polen sobre el amarre de frutos, para seleccionar los posibles polinizadores.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en Cuapancingo, municipio de Tetela de Ocampo, Puebla, México y en el Campo Agrícola

Experimental "San Martín" de la Universidad Autónoma Chapingo, en Chapingo, Edo. de México, México. Tetela de Ocampo se encuentra en la Sierra Norte de Puebla y se ubica a 18° 54' latitud norte y 98° 10' longitud oeste; su altitud es de 1,790 m y presenta un clima templado subhúmedo con lluvias en verano [Cb(w₁)igw"]. El Campo "San Martín" se localiza en los 19° 29' latitud norte y 98° 53' longitud oeste, tiene una altitud de 2,240 m y presenta un clima C(w₀)(W)b(i')g, correspondiente al más seco de los templados subhúmedos, con una precipitación anual de aproximadamente 645 mm (García, 1988).

En Tetela de Ocampo se utilizaron árboles de manzano 'Agua Nueva II' de 10 años de edad, injertados sobre portainjertos MM 106 y plantados en curvas de nivel en un sistema de espaldera, distanciados a 2, 3 y 4 m entre plantas y 7 a 8 m entre hileras, orientados de norte a sur. En Chapingo se utilizaron árboles de 11 años de edad, del mismo cultivar y portainjerto, con distanciamientos de 2 m entre plantas y 3 m entre hileras, plantados en un sistema de marco real.

Se registraron los períodos de floración de los diferentes cultivares, considerándose como el inicio de la misma cuando los árboles tenían de 12 a 15 % de flores abiertas y como el final cuando los árboles presentaron más del 95 % de las flores con caída de pétalos.

Como polinizadores se utilizaron los cultivares Agua Nueva II, Anna, Elba y Ma'ayan, establecidos en Chapingo, México. El polen se colectó cuando los botones estaban en estado de globo (25 a 30 de enero) y se conservó en el refrigerador a 5 °C.

Para el desarrollo del trabajo se establecieron tres experimentos, los cuales se describen a continuación:

Experimento 1 (polinización con ramas en Tetela de Ocampo, Puebla, México)

En recipientes de plástico con agua se colocaron 10 a 12 ramas (de aproximadamente 50 cm de longitud) con 20 a 30 % de flores abiertas de los manzanos 'Anna' y 'Elba', los cuales se ubicaron dentro de la copa de los árboles de 'Agua Nueva II', usando ocho árboles para cada polinizador y la unidad experimental fue una rama. En los árboles que sirvieron como testigo no se colocaron ramas de los polinizadores.

El experimento se realizó con un diseño de bloques al azar; en donde los bloques estuvieron constituidos por los distanciamientos entre árboles (2, 3 y 4 m). Se evaluaron las variables: número de frutos por árbol, producción por árbol, peso promedio por fruto, forma del fruto y número de semillas por fruto. En las últimas tres variables se usó el promedio de 20 frutos por árbol cosechados al azar.

Experimento 2 (polinización manual en Tetela de Ocampo, Puebla, México)

Se utilizaron nueve árboles de manzano 'Agua Nueva II', en donde se aplicaron los tratamientos siguientes: 1) polinización manual, usando como polinizadores a los manzanos 'Anna', 'Ma'ayan' y 'Agua Nueva II'; 2) polinización libre, y 3) autopolinización con caída natural de polen. Antes de iniciar los tratamientos se podaron los árboles y se les eliminaron las flores abiertas y los botones pequeños. En los tratamientos de polinización manual se emascularon las flores (40 a 95 por rama) y se polinizaron con el borrador de un lápiz; en los tratamientos de polinización libre y autopolinización no se hizo emasculación, y para la autopolinización las ramas se cubrieron con tela de tul. Para la polinización manual y polinización libre se usaron cuatro árboles, los tratamientos se aplicaron en dos ramas por árbol; de tal manera, que cada tratamiento se repitió ocho veces. El tratamiento de autopolinización con caída natural de polen se evaluó sobre los cinco árboles restantes, usando dos ramas por árbol.

En este experimento se utilizó un diseño de tratamientos completamente al azar y la unidad experimental consistió en una rama. Se evaluaron las variables: porcentaje de amarre de fruto (30 días después de las polinizaciones), peso promedio por fruto, forma del fruto, número de semillas por fruto, producción por árbol e índice de polinización. Para esta última variable se consideró la relación entre las semillas formadas y la cantidad de flores polinizadas; el valor se obtuvo dividiendo el número total de semillas formadas entre el número de flores polinizadas por cada repetición (Dayton, 1974).

Experimento 3 (polinización manual en Chapingo, Estado de México, México)

Se utilizaron 13 árboles de manzano 'Agua Nueva II', en donde se aplicaron los tratamientos siguientes: 1) polinización manual, usando como polinizadores a los manzanos 'Anna', 'Ma'ayan', 'Elba' y 'Agua Nueva II'; 2) polinización libre, y 3) autopolinización con caída natural de polen. Para la realización de los diversos tratamientos se siguió el procedimiento indicado para el Experimento 2, con excepción de que para la polinización manual y polinización libre se usaron ocho árboles (16 repeticiones). Se utilizó un diseño de tratamientos completamente al azar, siendo cada rama la unidad experimental. Se evaluó el porcentaje de amarre de frutos, peso promedio por fruto, número de semillas por fruto, producción por árbol e índice de polinización.

Los análisis se realizaron mediante el programa para microcomputadoras SAS 6.03 (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Períodos de floración

En condiciones de Tetela de Ocampo el inicio de la floración en el manzano 'Agua Nueva II' ocurrió aproximadamente el 9 de febrero, para finalizar durante la tercera semana de marzo. El período de floración de 'Anna' se traslapó con el de 'Agua Nueva II' en 10 días; mientras que el de 'Agua Nueva II' con el de 'Ma'ayan' presentó un traslapo de aproximadamente 15 días (Cuadro 1).

CUADRO 1. Períodos de floración de cuatro cultivares de manzano en dos localidades, evaluadas durante el invierno 1996-1997.

| Localidades | Cultivares | | | |
|------------------------------------|---------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| | 'Anna' | 'Ma'ayan' | 'Elba' | 'Agua Nueva II' |
| Tetela de Ocampo, Puebla, México | 26 diciembre a 19 febrero | 27 enero a 26 febrero | | 9 febrero a 22 marzo |
| Chapingo, Estado de México, México | 25 diciembre a 11 febrero | 28 enero a 22 febrero | 12 febrero a 13 marzo | 8 febrero a 15 marzo |

En Chapingo, México, los períodos de floración de los diversos cultivares fueron más cortos y por lo tanto, el traslapo de la floración de 'Agua Nueva II' con las de 'Anna' y 'Ma'ayan' se redujo, en tanto que con 'Elba' fue casi total (Cuadro 1).

Con base en los períodos de floración puede considerarse que el mejor polinizador para 'Agua Nueva II' podría ser 'Elba', seguido por 'Ma'ayan' y finalmente por 'Anna'. Aunque al momento de realizar esta investigación 'Elba' no se encontraba creciendo en Tetela de Ocampo, se estima que este cultivar puede ser un buen polinizador, dado que en condiciones de Chapingo hubo un traslapo casi total de la floración de éste con 'Agua Nueva II' y los períodos de floración difieren poco entre las dos localidades.

Experimento I (polinización con ramas en Tetela de Ocampo, Puebla, México)

Se observó una marcada diferencia entre los árboles en donde se colocaron las ramas de los polinizadores y los árboles con polinización libre. El número total de frutos por árbol, la producción por árbol, la forma del fruto y el número de semillas por fruto resultaron estadísticamente superiores en los árboles en los que se usaron polinizadores (Cuadro 2). Aunque el número total de frutos fue numéricamente mayor al usar como polinizador al cultivar

Elba, la producción por árbol no fue diferente al compararlo con la polinización por 'Anna'.

Es importante indicar que en los árboles en donde se usaron polinizadores se presentó un mayor número de frutos sin deformación, lo cual tiene relación con el número y la distribución de las semillas, como lo indican Way (1978) y Brault y De Oliveira (1995). A pesar de que cuando se usó 'Elba' como polinizador se obtuvieron frutos de tamaño ligeramente menor, éste produjo un mayor número de semillas que 'Anna' (Cuadro 2).

CUADRO 2. Efecto de la polinización libre y con ramas de los manzanos 'Anna y 'Elba' sobre la producción de fruto y sus características en manzano 'Agua Nueva II' en condiciones de Tetela de Ocampo, Puebla, México.

| Variable | Cultivares | | Polinización libre | DMS |
|------------------------------|----------------------|---------|--------------------|-------|
| | 'Anna' | 'Elba' | | |
| Número de frutos por árbol | 287.6 a ^y | 302.4 a | 19.7 b | 87.07 |
| Producción por árbol (kg) | 25.8 a | 25.6 a | 1.7 b | 2.7 |
| Peso promedio por fruto (g) | 89.7 a | 84.6 a | 85.3 a | 6.95 |
| Forma del fruto ^z | 1.7 a | 1.7 a | 1.4 b | 0.12 |
| Número de semillas por fruto | 3.6 b | 5.0 a | 1.0 c | 0.54 |

^zForma de los frutos (1=asimétricos o deformes; 2=simétricos)

^yValores con la misma letra dentro de hilera son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$

DMS: Diferencia mínima significativa

En peso de fruto no se observaron diferencias estadísticas entre los árboles con ramas y la polinización libre. Faust (1989) indicó que en pomáceos, a diferencia de la forma de los frutos, el peso no se ve muy influenciado

por el número de semillas, pues basta una sola semilla para estimular su desarrollo.

Experimento II (polinización manual en Tetela de Ocampo, Puebla, México)

En los porcentajes de amarre de fruto se observaron diferencias estadísticas, resultando ser mejor polinizador 'Ma'ayan' que 'Anna', aunque el usar cualesquiera de ellos resultó ser mejor que la polinización libre. Además, se observaron los problemas de autoincompatibilidad en 'Agua Nueva II', pues la autopolinización manual y el cubrimiento de ramas así lo demuestran (Cuadro 3). Los porcentajes de amarre de fruto (14.93 %, en promedio) en 'Agua Nueva II' al usar polen de otros cultivares fueron similares a los presentados por Rejman (1983) en el manzano 'Close' (14.53 %); por Spiegel-Roy y Alston (1982) en los cultivares Malling Greensleeves (18.73 %), Malling Kent (21.34 %) y Suntan (21.51 %), y por Schupp y Koller (1997) en el cultivar MacSpur McIntosh (8.0 %) al utilizar polen del manzano 'Delicious'.

Con respecto al peso promedio de frutos, el menor tamaño se obtuvo con la autopolinización manual de 'Agua Nueva II', mientras que el menor número de semillas se obtuvo en los frutos provenientes de las ramas cubiertas (autopolinizaciones naturales) y el mayor número correspondió a las polinizaciones cruzadas (Cuadro 3). Aunque la forma de los frutos fue estadísticamente similar en los diversos tratamientos, numéricamente hubo menos deformidades en los frutos provenientes de polinización cruzada. Bault y De Oliveira (1995) indicaron que el grado de asimetría está correlacionado con la formación de semillas normales; así, cuando disminuye el número de semillas aumenta el grado de asimetría de los frutos.

El índice de polinización mayor (0.63) se obtuvo cuando se usó polen de 'Ma'ayan' y el menor (0.001)

CUADRO 3. Efecto del polinizador sobre el porcentaje de amarre y características del fruto en manzano 'Agua Nueva II', en condiciones de Tetela de Ocampo, Puebla, México.

| Variable | Cultivares Polinizadores | | | Polinización libre | Autopolinización natural | DMS |
|-------------------------------------|--------------------------|-----------|-----------------|--------------------|--------------------------|-------|
| | 'Anna' | 'Ma'ayan' | 'Agua Nueva II' | | | |
| Porcentaje de amarre | 10.69 b ^x | 19.04 a | 0.84 cd | 2.73 c | 0.11 d | 6.55 |
| Peso promedio por fruto (g) | 87.27 ab | 89.06 ab | 72.48 b | 93.66 a | 91.14 a | 40.67 |
| Forma del fruto ^y | 1.61 a | 1.69 a | 1.40 a | 1.71 a | 1.00 a | 0.71 |
| Semillas por fruto | 3.21 ab | 4.30 a | 2.60 ab | 1.46 b | 0.25 c | 3.11 |
| Índice de polinización ^z | 0.26 b | 0.63 a | 0.05 b | 0.05 b | 0.001c | 0.28 |

^zÍndice de polinización: F=número de semillas por flor polinizada

^yForma de los frutos (1=asimétricos o deformes; 2=simétricos)

^xValores con la misma letra dentro de hilera son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$

DMS: Diferencia mínima significativa.

cuando se cubrieron las ramas. Aunque cabe indicar que ambos resultaron ser inferiores a un índice de 3.52 observado por Williams y Church (1978) en un cultivar de manzano autoincompatible al someterlo a polinización cruzada; así como por Dayton (1974) en varios cultivares autoincompatibles, cuando se hizo polinización cruzada fue de 1.42; y por Visser (1983), quien con polinización cruzada obtuvo 0.76.

Experimento III (polinización manual en Chapingo, Edo. de México, México)

Los tratamientos de polinización cruzada fueron los que presentaron un mayor porcentaje de amarre de frutos, que resultaron ser estadísticamente iguales entre ellos (Cuadro 4); a diferencia del experimento desarrollado en Tetela de Ocampo, en donde resultó superior 'Ma'ayan' (Cuadro 3).

Las ramas autofecundadas de manera natural no produjeron frutos, debido a que no recibieron polen de otro cultivar y probablemente ni de sí mismo. En el peso promedio por fruto no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos y se encontró que los frutos fueron más pequeños (Cuadro 4), con respecto a los obtenidos en Tetela de Ocampo (Cuadro 3), lo cual probablemente se debió a las condiciones de manejo.

Con respecto a la forma del fruto no se observaron diferencias estadísticas entre tratamientos, aunque la tendencia fue a producir menos frutos deformes cuando se hizo polinización cruzada o en condiciones de polinización libre, como sucedió en Tetela de Ocampo (Cuadro 3). Aunque con respecto al número de semillas no se encontraron diferencias estadísticas, si hubo ciertas tendencias, pues los frutos provenientes de polinización cruzada tuvieron un mayor número de semillas (Cuadro 4). Rejman (1983) observó una respuesta similar en el manzano 'Close', donde el mayor

número de semillas por fruto (2.36 en promedio) correspondió a flores que recibieron polinización cruzada. En los índices de polinización se observaron diferencias estadísticas, resultando superior la polinización manual con polen de 'Anna', seguida de las realizadas con polen de 'Elba' y 'Maayan'.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los períodos de floración, en condiciones de Tetela de Ocampo, Puebla, México, el manzano 'Ma'ayan' podría ser un buen polinizador para 'Agua Nueva II'; mientras que en condiciones de Chapingo, Estado de México, México, tanto el manzano 'Elba' como 'Ma'ayan' podrían ser buenos polinizadores.

Con base en los porcentajes de amarre de frutos, los polinizadores probados ('Anna', 'Ma'ayan' y 'Elba') resultaron ser superiores a las autopolinizaciones, lo que indica que en el manzano 'Agua Nueva II' hay autoincompatibilidad gametofítica.

LITERATURA CITADA

- BRAULT, A. M.; DE OLIVEIRA, D. 1995. Seed number and an asymmetry index of 'McIntosh' Apples. *HortScience* 30(1): 44-46.
- BREWBAKER, J. L. 1957. Pollen cytology and incompatibility systems in plants. *J. Hered.* 48: 271-277.
- BROWN, A. G. 1975. Apples, pp. 3-37. *In: Advances in Fruit Breeding* J. Janick and J. N. Moore (eds.). Purdue University. Press. W. Lafayette Ind., USA.
- DAYTON, D. F. 1974. Overcoming self-incompatibility in apple with killed compatible pollen. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 99: 190-192.
- FAUST, M. 1989. *Physiology of Temperate Zone Fruits Trees*. John Wiley & Sons Inc. New York., USA. 337 p.
- GARCÍA, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. D. F., México. 246 p.

CUADRO 4. Efecto del polinizador sobre el porcentaje de amarre y características del fruto en manzano 'Agua Nueva II', en condiciones de Chapingo, Edo. de México, México.

| Variable | Cultivares Polinizadores | | | | Polinización libre | Autopolinización natural | DMS |
|-------------------------------------|--------------------------|---------|-----------|-----------------|--------------------|--------------------------|-------|
| | 'Anna' | 'Elba' | 'Ma'ayan' | 'Agua Nueva II' | | | |
| Porcentaje de amarre | 18.66 a ^x | 12.86 a | 13.40 a | 0.15 b | 1.34 b | 0 | 6.96 |
| Peso promedio por fruto (g) | 31.41a | 33.59 a | 30.15 a | 52.5 a | 46.05 a | 0 | 22.99 |
| Forma de los frutos ^y | 1.67a | 1.65 a | 1.59 a | 1.0 a | 1.81 a | 0 | 0.89 |
| Semillas por fruto | 3.91a | 3.64 a | 2.60 a | 2.0 a | 1.63 a | 0 | 2.65 |
| Índice de polinización ^z | 0.86 a | 0.70 a | 0.44ab | 0.0 b | 0.02 b | 0 | 0.67 |

^xÍndice de polinización: F=número de semillas por flor polinizada.

^yForma de los frutos (1=asimétricos o deformes; 2=simétricos).

^zValores con la misma letra dentro de hilera son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$

DMS: Diferencia mínima significativa.

- GRIGGS, W. H. 1970. The status of deciduous fruit pollination, the indispensable pollinators. Report of the 9th Pollination Conference. Hort. Spring, Arkansas, USA. pp.185-210.
- HELSOP-HARRISON, J. 1975. Incompatibility and the pollen stigma interaction. Ann. Bot. Rev. Plant Physiol. 26: 403-425.
- KHAN, T. L.; DEMASON, D. A. 1986. A quantitative and structural comparison of *Citrus* pollen tube development in cross-compatible and self-incompatible gynoeceia. Can. J. Bot. 64: 2548-2555.
- LUIS-AGUILAR, A. 1982. Estudio fenológico en selecciones de manzano (*Malus pumila* Mill.) de requerimiento bajo de frío. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Fruticultura, Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 122 p.
- RAMÍREZ, H.; MATA, I. 1987. Flowering capacity of a Golden Delicious mutant in northeast Mexico. Acta Hort. 179: 373-374.
- REJMAN, A. 1983. The influence of pollinators on fruit set and some characters of 'Close' apples. Acta Hort. 139: 29-31.
- SCHUPP, J. R.; KOLLER, S. I. 1997. Testing a power duster for pollination of 'McIntosh' apples. HortScience 32(4): 742.
- SPIEGEL-ROY, P.; ALSTON, F. M. 1982. Pollination requirements of new apple cultivars. J. Hort. Sci. 57(2): 145-150.
- VISSER, T. 1983. The role of pioneer pollen in compatible and incompatible pollinations of apple and pear. Acta Hort. 139: 51-57.
- WAY, R. D. 1978. Pollination and fruit set of fruit crops. New York Agr. Exp. Sta. Bull. 67 p.
- WILLIAMS, R. R.; CHURCH, R. M. 1978. Effect of killed compatible pollen on self-incompatibility in apple. J. Hort. Sci. 53(5): 457-461.