

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE  
ELCHE

ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA

GRADO EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y  
AGROAMBIENTAL



Estudio de la viabilidad de cruzamientos interespecíficos,  
*Prunus armeniaca x Prunus salicina*

TRABAJO FIN DE GRADO  
Diciembre-2015

Autor: Juan Francisco Salinas Marquina  
Tutores: Santiago García Martínez  
David Ruiz González



**ESTUDIO DE LA VIABILIDAD DE CRUZAMIENTOS INTERESPECÍFICOS**  
*Prunus armeniaca x Prunus salicina*

**RESUMEN**

En el presente trabajo se ha estudiado la viabilidad de los cruzamientos interespecíficos de *P. armeniaca x P. salicina* y viceversa, mediante la polinización manual en ambos sentidos. La viabilidad de los cruzamientos se comprobó mediante el porcentaje de cuajado de frutos respecto del total de flores polinizadas. Asimismo, se ha evaluado el porcentaje de germinación *in vitro* de las semillas obtenidas, lo que nos aporta una valiosa información respecto a la viabilidad final de los híbridos generados.

Los resultados obtenidos han mostrado en general un mayor porcentaje de fructificación cuando el parental femenino es el albaricoquero, con un valor medio del 14% de fructificación exitosa, frente al 3% cuando se usó ciruelo japonés como parental materno. Se evaluó además la viabilidad de los cruces de ciruelo x ciruelo, con un 17% de fructificación media. Los porcentajes de germinación *in vitro* de las semillas obtenidas han sido en general muy elevados.

-Palabras clave: albaricoquero, ciruelo japonés, cruzamientos, plumcot, mejora genética.

**STUDY OF THE VIABILITY IN INTERESPECIFIC CROSSING**  
*Prunus armeniaca x Prunus salicina*

**ABSTRACT**

In this work we have studied the viability of interspecific crosses of *P. armeniaca x P. salicina* and vice versa, though the manual pollination in both ways. The viability of the crosses was assessed by the percentage of fruit set regard the total of pollinated flowers. In addition, the percentages of *in vitro* seed germination have also been evaluated, which provide us valuable information regarding the final feasibility of hybrids generation.

The results have generally shown a higher percentage of fruit set when the female parent was apricot, with a mean value of 14% of fruit set, compared to 3% when japanese plum was used as maternal parent. The feasibility of crosses japanese plum x japanese plum also have been evaluated, with 17% on average of fruit set. The percentages of *in vitro* seed germination obtained were generally very high.

- Keywords: apricot, japanese plum, crosses, plumcot, breeding.

## ÍNDICE

|   |               |
|---|---------------|
| <b>1.- INTRODUCCIÓN</b>   | <b>- 5 -</b>  |
| 1.1.- ORIGEN DEL CULTIVO  | - 5 -         |
| 1.2.- TAXONOMÍA Y DESCRIPCIÓN BOTÁNICA  | - 6 -         |
| 1.3.- IMPORTANCIA ECONÓMICA   | - 8 -         |
| 1.4.- PROGRAMA DE MEJORA GENÉTICA DE CIRUELO JAPONÉS DEL<br>CEBAS-IMIDA                             | - 11 -        |
| <b>2.- OBJETIVOS DEL TRABAJO</b>  | <b>- 12 -</b> |
| <b>3.- MATERIAL Y MÉTODOS</b>   | <b>- 13 -</b> |
| 3.1.- PARCELAS EXPERIMENTALES   | - 13 -        |
| 3.2.- MATERIAL VEGETAL  | - 14 -        |
| 3.3.- EXTRACCIÓN DEL POLEN  | - 15 -        |
| 3.4.- POLINIZACIONES CONTROLADAS  | - 17 -        |
| 3.5.- TOMA DE DATOS   | - 21 -        |
| 3.6.- GERMINACIÓN Y CULTIVO <i>IN VITRO</i> DE EMBRIONES  | - 24 -        |
| <b>4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>   | <b>- 29 -</b> |
| 4.1.- VIABILIDAD DE LOS CRUZAMIENTOS INTERESPECÍFICOS CON<br>ALBARICOQUERO COMO PARENTAL FEMENINO   | - 29 -        |
| 4.2.- VIABILIDAD DE LOS CRUZAMIENTOS INTERESPECÍFICOS CON<br>CIRUELO JAPONÉS COMO PARENTAL FEMENINO | - 30 -        |
| 4.3.- VIABILIDAD DE LOS CRUZAMIENTOS ENTRE VARIEDADES DE<br>CIRUELO JAPONÉS                         | - 31 -        |
| 4.4.- PORCENTAJE DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS <i>IN VITRO</i>   | - 32 -        |
| <b>5.- CONCLUSIONES</b>   | <b>- 33 -</b> |
| <b>6.- BIBLIOGRAFÍA</b>   | <b>- 34 -</b> |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |        |
|--|--------|
| Tabla 1.- Encuadre taxonómico del albaricoquero.....                           | - 6 -  |
| Tabla 2.- Encuadre taxonómico del ciruelo japonés.....                         | - 7 -  |
| Tabla 3.- Producción española de albaricoque. Magrama 2010-2012 .....          | - 10 - |
| Tabla 4.- Producción española de ciruela. Magrama 2010-2012 .....              | - 11 - |
| Tabla 5.- Datos de la estación agrometeorológica La Carrichosa (CI42)** .....  | - 14 - |
| Tabla 6.- Listado de cruzamientos realizados .....                             | - 15 - |
| Tabla 7.- Resultados de los cruzamientos albaricoquero x ciruelo japonés ..... | - 29 - |
| Tabla 8.- Resultados de los cruzamientos ciruelo japonés x albaricoquero ..... | - 30 - |
| Tabla 9.- Resultados cruzamientos ciruelo japonés x ciruelo japonés .....      | - 31 - |
| Tabla 10.- Resultado de la germinación <i>in vitro</i> .....                   | - 32 - |

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

|   |        |
|---|--------|
| Ilustración 1.- Centros de origen y difusión del albaricoquero              | - 5 -  |
| Ilustración 2.- Detalle de la flor del albaricoquero                        | - 7 -  |
| Ilustración 3.- Detalle de la flor del ciruelo                              | - 8 -  |
| Ilustración 4.- Producción mundial de albaricoquero. Anuario FAO 2010-11-12 | - 9 -  |
| Ilustración 5.- Producción mundial de ciruelo. Anuario FAO 2010-11-12       | - 9 -  |
| Ilustración 6.- Localización de las fincas                                  | - 13 - |
| Ilustración 7.- Polinización de ciruelo                                     | - 17 - |
| Ilustración 8.- Flor emasculada de albaricoquero                            | - 18 - |
| Ilustración 9.- Ciruelos bajo malla   | - 19 - |
| Ilustración 10.- Albaricoquero bajo malla                                   | - 20 - |
| Ilustración 11.- Protección de ramas individuales en albaricoquero          | - 20 - |
| Ilustración 12.- Estados fenológicos del ciruelo (Baggiolini, 1952)         | - 22 - |
| Ilustración 13.- Estados fenológicos del albaricoquero (Baggiolini, 1952)   | - 22 - |
| Ilustración 14.- Albaricoquero al quitar la malla                           | - 23 - |
| Ilustración 15.- Albaricoques recolectados. Separados por cruzamientos      | - 24 - |
| Ilustración 16.- Embriones en cámara  | - 25 - |
| Ilustración 17.- Detalle plántula germinada                                 | - 26 - |
| Ilustración 18.- Aclimatación gradual                                       | - 27 - |
| Ilustración 19.- Plantas en invernadero                                     | - 28 - |

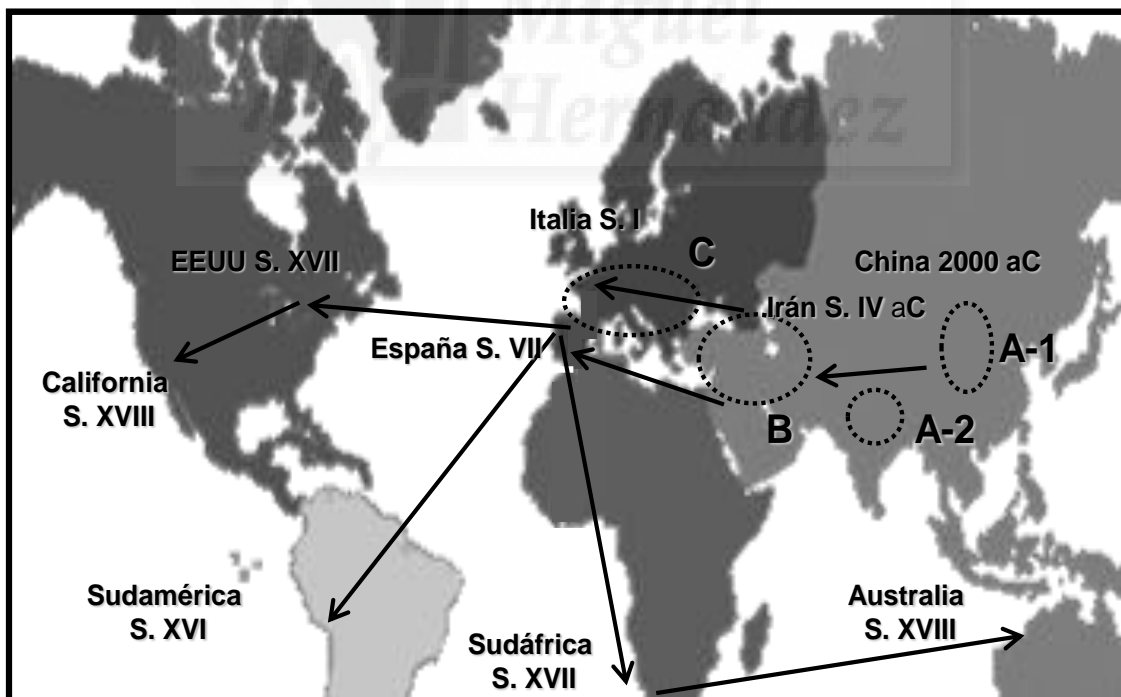
## 1.- INTRODUCCIÓN

### 1.1.- ORIGEN DEL CULTIVO

La especie *Prunus armeniaca* parece ser originaria del Turkeistán chino, considerándose la región montañosa del Tien Shan su hábitat natural, cuya población humana tenía en los albaricoques su principal fuente de azúcar (Got, 1963). Se encuentran bosques de albaricoqueros espontáneos entre los 1.200 y los 2.200m de altitud, desde Corea del Norte hasta Manchuria, Mongolia y norte de China.

Su cultivo comenzó hace más de 3.000 años en China, desde donde se expandió a Asia central, Irán, Asia menor, Armenia y Siria. A Europa llegó por dos caminos: en el siglo I a.C., procedente de Armenia a través de Grecia e Italia, y en el siglo VII, cuando los árabes lo introdujeron en España (Ilustración 1). En Europa se puede hablar de auténticas plantaciones a partir del siglo XVII, mientras que al continente americano llegó en 1720.

Ilustración 1.- Centros de origen y difusión del albaricoquero



El ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl), originario de Extremo Oriente, probablemente procedente de China; en el año 1500 fue introducido en Japón y posteriormente en otros países. A Europa llegó alrededor del año 1876 (Cobianchi y col., 1989).

Los ciruelos cultivados pertenecen a una decena de especies principales y a sus híbridos; dos o tres de estas especies principales son originarias de Asia Occidental y de Europa, otras dos tienen su origen en Extremo Oriente y las demás en América del Norte. Las variedades presentes en este estudio son ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl)

## 1.2.- TAXONOMÍA Y DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

El albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.) pertenece a la subfamilia Prunoidea dentro de la familia Rosaceae. En el extenso género *Prunus*, con aproximadamente 175 especies distribuidas en tres subgéneros (*Amigdalus*, *Prunophora* y *Cerasus*), se suele agrupar junto a los ciruelos en el subgénero *Prunophora*. (Rodrigo y Herrero, 2000)

**Tabla 1.- Encuadre taxonómico del albaricoquero**

|             |                     |
|-------------|---------------------|
| REINO       | Vegetal (eucariota) |
| DIVISIÓN    | Magnoliophyta       |
| SUBDIVISIÓN | Angiosperma         |
| CLASE       | Dicotiledóneas      |
| ORDEN       | Rosales             |
| FAMILIA     | Rosaceae            |
| SUBFAMILIA  | Prunoideas          |
| GÉNERO      | <i>Prunus</i>       |
| ESPECIE     | <i>armeniaca</i>    |

Se trata de una planta histeranta, ya que la emisión de las hojas se produce después de la floración (Forte, 1992). El albaricoquero es un árbol caducifolio, vigoroso, de porte abierto, con tronco robusto y de madera oscura. Las hojas tienen un largo peciolo, limbo acorazonado y ligeramente aserrado, de color rojizo cuando inician el desarrollo y verde intenso cuando son adultas.

Sus flores se encuentran situadas, mayoritariamente, en ramos mixtos, con pedúnculo corto, con brácteas, pentámeras, con numerosos estambres, pétalos de color blanco rosáceo y hermafroditas.

## Ilustración 2.- Detalle de la flor del albaricoquero



El ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl.) pertenece a la gran familia de las Rosáceas, subfamilia Prunoidea, género *Prunus*, subgénero *Prunophora*. Comparte las características botánicas del albaricoquero. Siendo está también histeranta, caducifolia, de porte abierto con tronco robusto y madera rojiza. Las hojas tienen peciolo largo, limbo alargado y aserrado.

**Tabla 2.- Encuadre taxonómico del ciruelo japonés**

|             |                     |
|-------------|---------------------|
| REINO       | Vegetal (eucariota) |
| DIVISIÓN    | Magnoliophyta       |
| SUBDIVISIÓN | Angiosperma         |
| CLASE       | Dicotiledóneas      |
| ORDEN       | Rosales             |
| FAMILIA     | Rosaceae            |
| SUBFAMILIA  | Prunoideas          |
| GÉNERO      | <i>Prunus</i>       |
| ESPECIE     | <i>salicina</i>     |



Floraciones densas y abundantes, con pedúnculo largo, pentámeras, con numerosos estambres, pétalos de color blanco y hermafroditas.

**Ilustración 3.- Detalle de la flor del ciruelo**

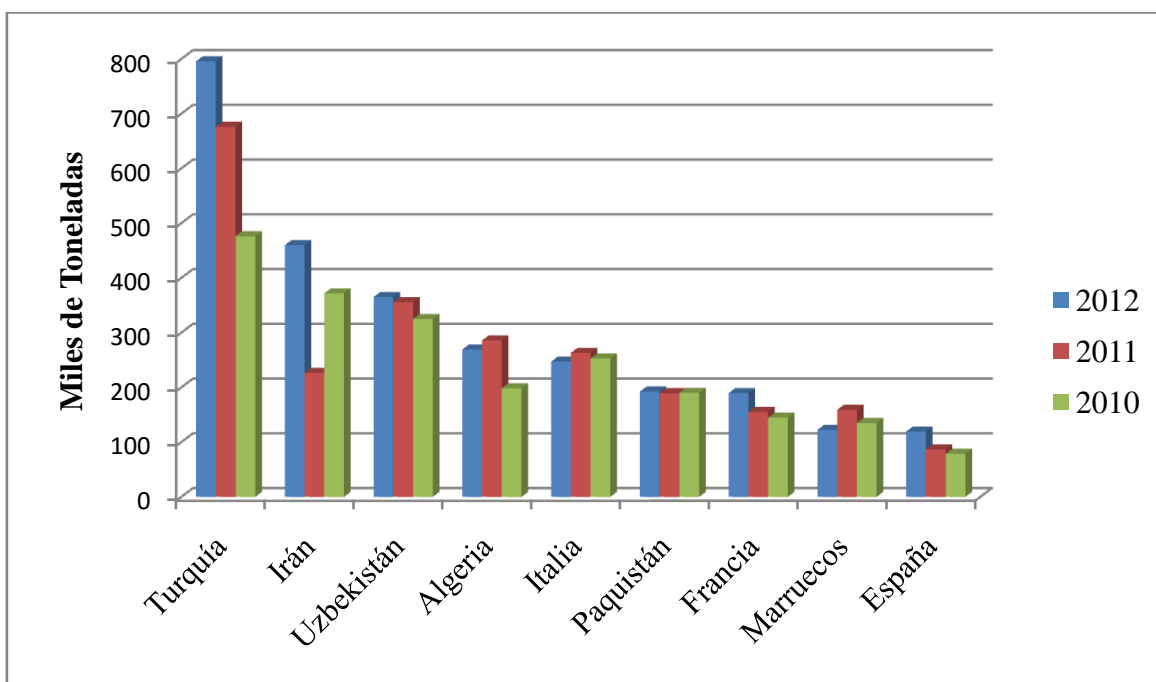


### 1.3.- IMPORTANCIA ECONÓMICA

La mayor parte de la producción mundial de albaricoquero (60%) se concentra en la cuenca mediterránea. Otras importantes zonas de producción se encuentran en Asia y California.

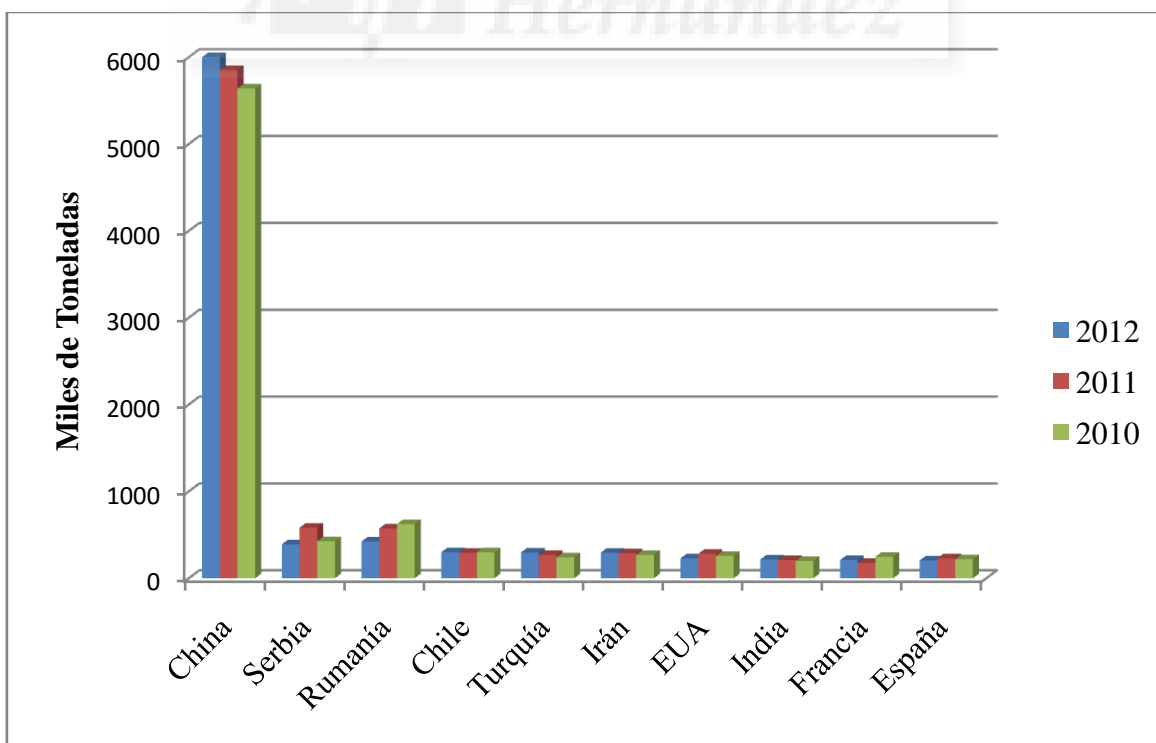
A nivel mundial España ocupa el 9º y el 10º lugar en cuanto a la producción de albaricoque y ciruela respectivamente, como podemos observar en la Ilustración 4 y la Ilustración 5.

**Ilustración 4.- Producción mundial de albaricoquero. Anuario FAO 2010-11-12**



Resulta evidente si observamos la Ilustración 5 que la producción de ciruela por parte de China sobrepasa ampliamente las producciones de los restantes países.

**Ilustración 5.- Producción mundial de ciruelo. Anuario FAO 2010-11-12**



En el territorio europeo, España ocupa el 4º lugar en la producción tanto de albaricoque como de ciruelo, suponiendo en 2012 el 18% y el 16% respectivamente de la producción total europea.

En el territorio nacional, la Región de Murcia es con diferencia la principal zona productora de albaricoque, llegando su producción media a suponer el 65,99% del total nacional (Tabla 3). Y siendo más del 90% de la producción de cultivos en regadío.

**Tabla 3.- Producción española de albaricoque. Magrama 2010-2012**

| <b>Región</b>             | <b>Superficie (ha)</b> | <b>Producción (t)</b> | <b>Porcentaje producción</b> |
|---------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------------|
| <b>Galicia</b>            | 96                     | 947                   | 1,03%                        |
| <b>Navarra</b>            | 36                     | 123                   | 0,13%                        |
| <b>La Rioja</b>           | 21                     | 77                    | 0,08%                        |
| <b>Aragón</b>             | 1.395                  | 8.085                 | 8,51%                        |
| <b>Cataluña</b>           | 824                    | 3.822                 | 3,84%                        |
| <b>Baleares</b>           | 425                    | 188                   | 0,20%                        |
| <b>Castilla La Mancha</b> | 1.820                  | 5.911                 | 6,06%                        |
| <b>C. Valenciana</b>      | 4.129                  | 7.744                 | 8,29%                        |
| <b>R. de Murcia</b>       | 8.984                  | 62.331                | 65,99%                       |
| <b>Extremadura</b>        | 251                    | 1.336                 | 1,33%                        |
| <b>Andalucía</b>          | 408                    | 2.469                 | 2,71%                        |
| <b>Canarias</b>           | 83                     | 1.592                 | 1,73%                        |
| <b>España</b>             | <b>18.480</b>          | <b>94.698</b>         | <b>99,92%</b>                |

En el caso de la producción de ciruela, es Extremadura la principal región productora, suponiendo su producción media el 48,92% del total nacional, con la práctica totalidad de su producción en regadío. Le siguen en importancia Andalucía y la Región de Murcia (Tabla 4).

**Tabla 4.- Producción española de ciruela. Magrama 2010-2012**

| <b>Región</b>             | <b>Superficie (ha)</b> | <b>Producción (t)</b> | <b>Porcentaje producción</b> |
|---------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------------|
| <b>Galicia</b>            | 619                    | 9.805                 | 4,71%                        |
| <b>La Rioja</b>           | 371                    | 1.998                 | 0,93%                        |
| <b>Aragón</b>             | 1.153                  | 7.257                 | 3,39%                        |
| <b>Cataluña</b>           | 524                    | 4.503                 | 2,16%                        |
| <b>Castilla y León</b>    | 131                    | 1.735                 | 0,92%                        |
| <b>Castilla La Mancha</b> | 628                    | 3.538                 | 1,79%                        |
| <b>C. Valenciana</b>      | 2.797                  | 9.684                 | 4,48%                        |
| <b>R. de Murcia</b>       | 2.012                  | 24.813                | 11,77%                       |
| <b>Extremadura</b>        | 5.191                  | 104.745               | 48,92%                       |
| <b>Andalucía</b>          | 2.959                  | 41.532                | 19,61%                       |
| <b>Canarias</b>           | 173                    | 2561                  | 1,14%                        |
| <b>España</b>             | <b>16.915</b>          | <b>213.757</b>        | <b>99,15%</b>                |

#### 1.4.- PROGRAMA DE MEJORA GENÉTICA DE CIRUELO JAPONÉS DEL CEBAS-IMIDA

Este estudio se engloba dentro del programa de mejora genética de ciruelo japonés que está llevado a cabo de forma coordinada el CEBAS-CSIC y el IMIDA de Murcia. Este programa pretende poner solución a algunos de los principales problemas del cultivo del ciruelo, marcándose como objetivos la obtención de nuevas variedades con las siguientes características (Ruiz y col., 2010):

- Época de maduración temprana (Mayo - Junio)
- Autocompatibilidad floras
- Productividad
- Calidad de fruto
- Resistencia al virus de la sharka (PPV)

Para conseguir estos objetivos se están desarrollando las siguientes líneas de actuación:

- Creación de una colección de variedades potencialmente utilizable como parentales.
- Evaluación de aspectos clave en variedades comerciales.
- Búsqueda de fuentes de resistencia al virus de la sharka.

- Realización de cruzamientos, germinación “in vitro” y plantación de las descendencias.
- Evaluación de las descendencias y selección de individuos de interés.

El programa de mejora genética se inició en 2011, por lo que debemos considerar que es un programa relativamente reciente y que todavía no dispone de selecciones avanzadas o nuevas variedades obtenidas.

## **2.- OBJETIVOS DEL TRABAJO**

El presente estudio tiene como finalidad evaluar la viabilidad de los cruzamientos interespecíficos de *Prunus armeniaca* x *Prunus salicina* y viceversa, *P. salicina* x *P. salicina*, así como el porcentaje de germinación de estos cruces. Este trabajo se enmarca en el programa de mejora genética de ciruelo japonés que viene desarrollando de forma coordinada el CEBAS-CSIC y el IMIDA de Murcia.

Serán determinadas las posibilidades de éxito de la hibridación entre estas especies frutales, mediante polinizaciones controladas de distintas variedades de estas especies.

Además de evaluar el éxito de las polinizaciones manuales, será determinada la capacidad germinativa de estos cruces para producir plumcots (primera hibridación de ciruela x albaricoque). La generación de híbridos interespecíficos forma parte de los objetivos del programa de mejora en que se engloba este trabajo.

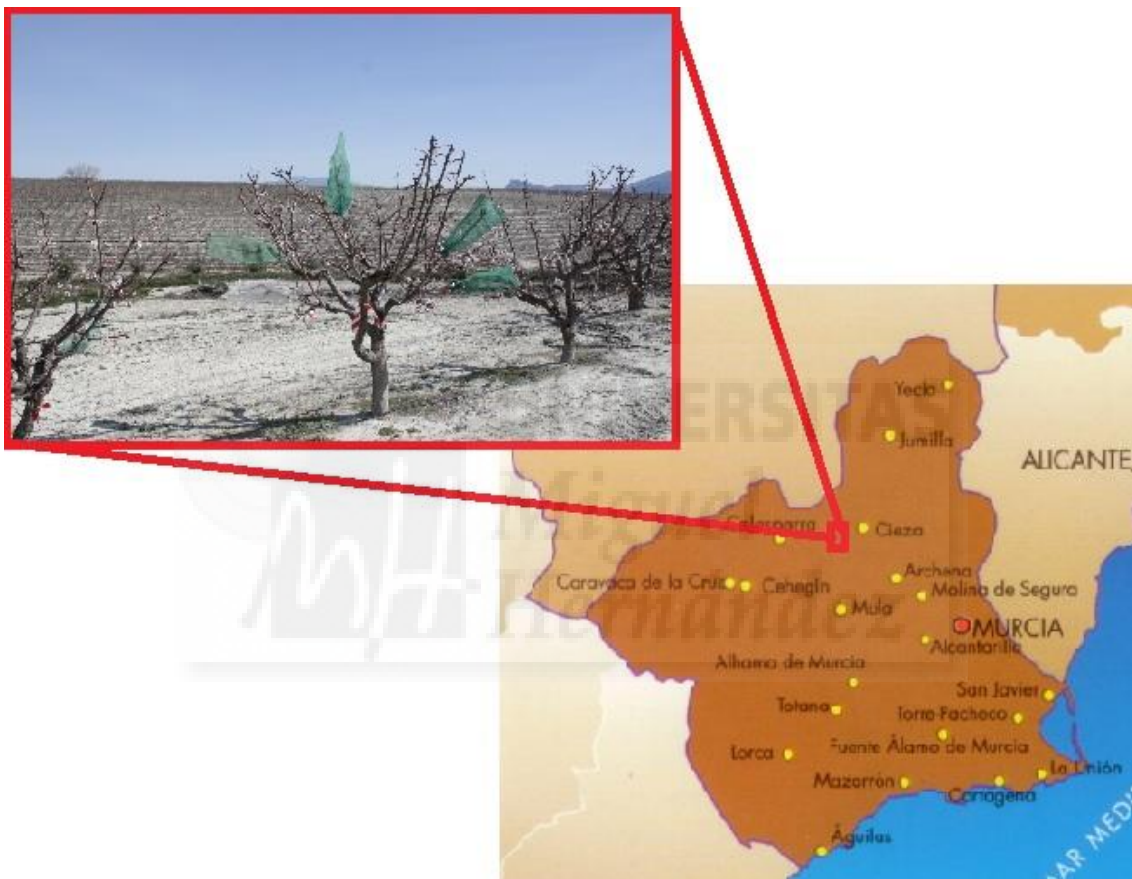
Para ello se han utilizado variedades de ciruelo japonés y de albaricoquero con elevado interés comercial, a fin de generar híbridos interespecíficos que aúnen los caracteres deseados. Este estudio preliminar será la base para conocer la viabilidad de la transmisión de características agronómicas deseables entre ambas especies.

### 3.- MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1.- PARCELAS EXPERIMENTALES

El estudio se realizó en dos fincas experimentales del CEBAS-CESIC localizadas en el término municipal de Cieza (Murcia), separadas pocos kilómetros las plantaciones de ciruelo japonés y albaricoquero.

**Ilustración 6.- Localización de las fincas**



En la Tabla 5 se presentan algunos de los datos climáticos correspondientes a la estación agrometeorológica de La Carrichosa (CI42), muy cercana a ambas fincas.

**Tabla 5.- Datos de la estación agrometeorológica La Carrichosa (CI42)\*\***

| <b>FECHA</b>  | <b>T MED<br/>(° C)</b> | <b>PREC<br/>(mm)</b> | <b>HORAS 0<br/>(h)</b> | <b>HORAS 7<br/>(h)</b> | <b>UF*</b> |
|---------------|------------------------|----------------------|------------------------|------------------------|------------|
| <b>Nov-14</b> | 12,25                  | 42,5                 | 0                      | 67                     | 145,5      |
| <b>Dic-14</b> | 10,1                   | 28,1                 | 1                      | 96                     | 367        |
| <b>Ene-15</b> | 13,84                  | 4,7                  | 0                      | 3                      | 368        |
| <b>Feb-15</b> | 9,97                   | 21,4                 | 11                     | 165                    | 676        |
| <b>Mar-15</b> | 13,88                  | 46,6                 | 0                      | 70                     | 728        |
| <b>Abr-15</b> | 13,99                  | 3,6                  | 0                      | 0                      | 734,5      |

\*UF acumulativas mes a mes.

\*\*Durante el mes de enero la estación solo capturó datos durante 4 días.

### 3.2.- MATERIAL VEGETAL

Los cultivares utilizados en el estudio son variedades comerciales y preselecciones de ciruelo japonés y albaricoquero. Todas las variedades se caracterizan por su fecha de maduración temprana y buenas cualidades en relación a la calidad del fruto.

Todas ellas tienen un alto interés comercial y por ello se han utilizado en los diferentes cruzamientos, a fin de generar descendencias que aúnen las características deseadas. Además, las variedades de albaricoquero son resistentes al virus de la Sharka (*Plum pox virus* - PPV). A continuación se relacionan las diferentes variedades utilizadas en los cruzamientos.

- Variedades de ciruelo japonés; Honey Dawn, Pioneer, Black Splendor, Santa Rosa, selección Ciruelo 1 y selección Ciruelo 2.

- Variedades de albaricoquero; Cebas 7-58 y Cebas 5-57.

A continuación se exponen los diferentes cruzamientos que se realizaron. Además de los cruzamientos interespecíficos de *P. salicina* x *P. armeniaca*, también se realizaron cruzamientos de *P. salicina* x *P. salicina*.

**Tabla 6.- Listado de cruzamientos realizados**

| <b>Ciruelo x Ciruelo</b>       | <b>Albaricoque x Ciruelo</b>   | <b>Ciruelo x Albaricoque</b> |
|--------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| Honey Dawn x Ciruelo 2         | Cebas 5-57 x Ciruelo 1         | Ciruelo 1 x Cebas 7-58       |
| Honey Dawn x Pioneer           | Cebas 7-58 x Ciruelo 1         | Ciruelo 1 x Cebas 5-57       |
| Honey Dawn x Black<br>Splendor | Cebas 5-57 x Black<br>Splendor | Honey Dawn x Cebas 7-58      |
| Honey Dawn x Ciruelo 1         | Cebas 7-58 x Ciruelo 2         | Honey Dawn x Cebas 5-57      |
| Honey Dawn x Santa Rosa        | Cebas 5-57 x Pioneer           | Black Splendor x Cebas 7-58  |
| Black Splendor x Ciruelo 2     | Cebas 7-58 x Black<br>Splendor | Black Splendor x Cebas 5-57  |
| Black Splendor x Santa<br>Rosa | Cebas 5-57 x Sta. Rosa         |                              |
|                                | Cebas 7-58 x Sta. Rosa         |                              |
|                                | Cebas 5-57 x Honey Dawn        |                              |
|                                | Cebas 7-58 x Pioneer           |                              |
|                                | Cebas 5-57 x Ciruelo 2         |                              |
|                                | Cebas 7-58 x Honey Dawn        |                              |

### 3.3.- EXTRACCIÓN DEL POLEN

#### 3.3.1.- PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL

La recolección del polen que posteriormente se usaría en los cruzamientos se realizó mediante la recogida directa de los botones florales en campo.

Dado que algunas variedades que han de ser polinizadoras florecen más tarde que la especie que iba a ser polinizada, en estos casos, se procedió al forzado de las yemas florales para obtener el polen.

El forzado se realizó poniendo las ramas con yemas hinchadas, (estado fenológico 51-B en el albaricoquero (Ilustración 13) y 51-C en el ciruelo (Ilustración 12)), en recipientes plásticos con agua y un 10% de fructosa. El conjunto de recipiente y rama se cerraba en bolsas opacas y se guardaba a una temperatura media de 20°C hasta la apertura de la mayoría de flores.



La recolección de flores en el campo se llevó a cabo antes de la dehiscencia de antera, entre los estadios 57-D y 59-D en albaricoquero y 54-55-D y 59-D en ciruelo (Ilustración 13 e Ilustración 12), evitando la plena floración. Las flores recogidas se llevan en una bolsa de plástico dentro de una nevera al laboratorio para proceder a la separación del polen.

### 3.3.2.- EXTRACCIÓN DEL POLEN

En el laboratorio, tanto las flores forzadas como las recolectadas siguieron el mismo procedimiento. Se eliminó la corola y mediante unas pinzas se separaron las anteras del filamento, las cuales caían en un papel.

Se eliminaban el mayor número de filamentos posibles de los que habían caído en el papel y se dejaron secar en el laboratorio. El secado se produjo al aire a temperatura ambiente de 20°C durante 1 o 2 días. El polen fue conservado en viales de vidrio refrigerado a 5°C



### 3.4.- POLINIZACIONES CONTROLADAS

Para la polinización se sumergía un pincel fino en el vial con el polen utilizado como parental masculino y posteriormente se “pintaba” el estigma de las flores utilizadas como parental femenino (Ilustración 7). Al mismo tiempo se procedía al conteo de las flores polinizadas para recabar los datos del estudio.

**Ilustración 7.- Polinización de ciruelo**



Dado que las variedades de albaricoquero utilizadas en este estudio son autocompatibles, en los cruzamientos donde se utilizó albaricoquero como parental femenino se procedió al emasculado de las flores (Ilustración 8). Este es un proceso delicado, dado que consiste en eliminar corola, anteras y filamentos sin dañar el gineceo. Se procede a la emasculación y polinización de las flores con corola visible hinchada, flores en balón o en principio de floración; 57-D y 59-D en albaricoquero. (Ilustración 13)

### Ilustración 8.- Flor emasculada de albaricoquero



En la Ilustración 7 se observa el detalle de una flor de albaricoquero ya emasculada. Se observa el gineceo completo una vez retirados corola, filamentos y anteras. El tamaño y la menor densidad de floración hacen que la emasculación presente una mayor facilidad.

### Ilustración 9.- Ciruelos bajo malla



Para evitar la polinización cruzada entomófila de las flores polinizadas manualmente, se procedió a la protección de ramas y árboles completos mediante mallas finas (Ilustraciones 9 y 10). De esta forma se aseguró que los cruzamientos realizados no fueran “contaminados” por polen de otras variedades. El procedimiento comienza protegiendo la rama, árbol o grupo de árboles antes del inicio de la floración, y retirando las flores que abrieron antes del enmallado.

Al mismo tiempo, se etiquetaron las ramas y árboles de cada cruzamiento. En los casos en los que se protegía todo el árbol se etiquetaban varias ramas para el estudio, aunque se polinizaba el árbol completo para obtener mayor cantidad de frutos.

**Ilustración 10.- Albaricoquero bajo malla**



Las flores que no se han desarrollado lo suficiente para proceder a la polinización se dejan intactas para polinizarlas cuando lleguen a los estadios anteriormente mencionados.

**Ilustración 11.- Protección de ramas individuales en albaricoquero**



En los cruzamientos donde se utilizó ciruelo japonés como parental femenino, la autoincompatibilidad hace innecesaria la emasculación, procediendo a la polinización de todas las flores abiertas y retirando algunos pétalos para dejar visible estigma y estilo de las flores con corola hinchada o en balón.

La experiencia ha puesto de manifiesto que si se quiere obtener una población de x individuos se deben polinizar al menos 3x flores, lo que generalmente dará lugar a una fructificación del 50%, que en condiciones normales darán a su vez x individuos (Ruíz 1997)

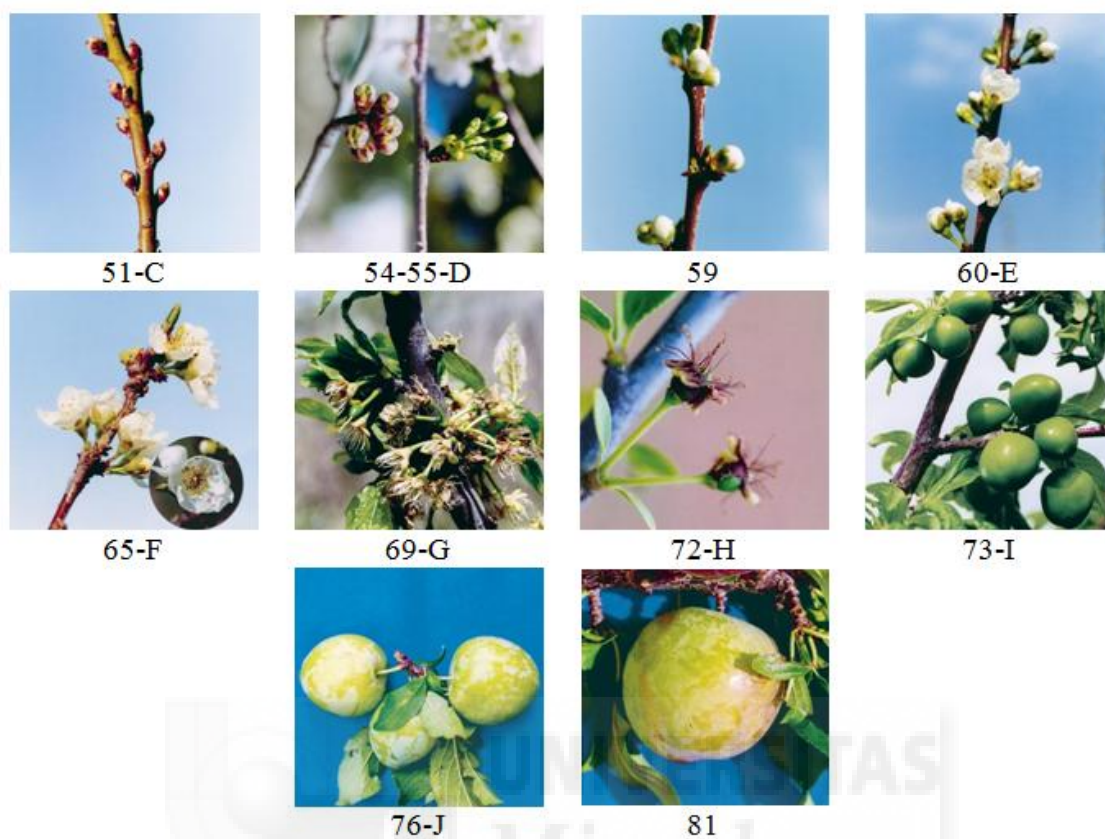
### 3.5.- TOMA DE DATOS

Una vez finalizada la floración y con ellos las labores de polinización, se realizaron visitas periódicas para revisar el estado de las mallas.

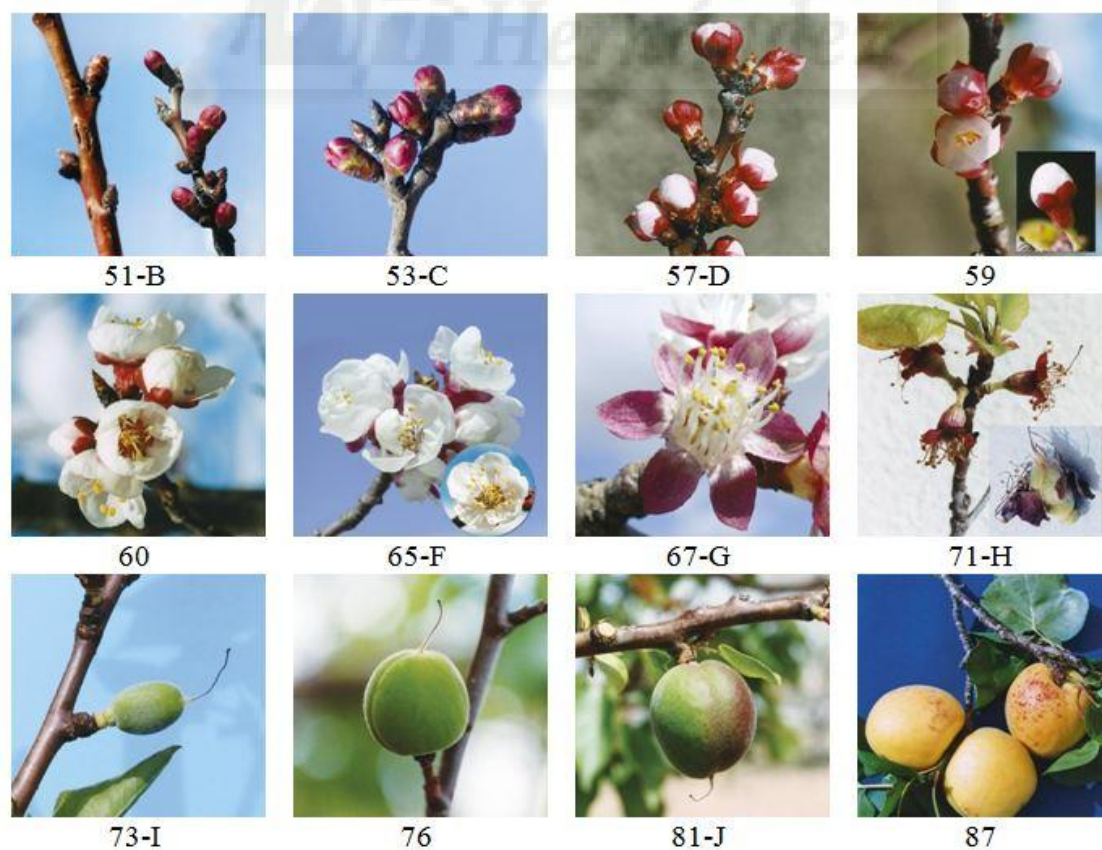
La retira de las mallas se lleva a cabo algún tiempo después de finalizar la plena floración, para añadir una protección extra a los frutos recién cuajados frente a las bajas temperaturas y las heladas tardías.

Periódicamente se realizaron controles de los árboles polinizados a fin de revisar el cuajado de las flores polinizadas.

**Ilustración 12.- Estados fenológicos del ciruelo (Baggiolini, 1952)**



**Ilustración 13.- Estados fenológicos del albaricoquero (Baggiolini, 1952)**



#### Ilustración 14.- Albaricoquero al quitar la malla



Los frutos se recolectaron en el momento de su madurez fisiológica, debido a que posteriormente se procederá a la germinación *in vitro* de los huesos de cada fruto.

La necesidad de seguir una trazabilidad que nos permita conocer a que cruzamiento pertenece cada fruto, hace necesario recolectar los cruzamientos de manera individualizada, separándolos y etiquetándolos para su posterior reconocimiento.

De cada cruzamiento se contabilizaron los frutos obtenidos a partir de las flores polinizadas, mostrándose el resultado como porcentaje (%) de fructificación.



### Ilustración 15.- Albaricoques recolectados. Separados por cruzamientos



Los frutos obtenidos se guardan en una cámara frigorífica en las instalaciones del IMIDA para proceder al protocolo de germinación *in vitro* de las semillas.

#### 3.6.- GERMINACIÓN Y CULTIVO *IN VITRO* DE EMBRIONES

Para la determinación de la viabilidad de las semillas de los cruzamientos interespecíficos, así como de los cruzamientos de ciruela x ciruela, se procedió en las instalaciones del IMIDA a la germinación *in vitro* de dichas semillas.

El protocolo para la germinación *in vitro* comienza partiendo el hueso, se saca la semilla y se desinfecta con cloro para evitar al máximo la pérdida de embriones producida por contaminaciones.

Siguiendo con la protección sanitaria, en una cabina de flujo laminar se quitan los tegumentos y se siembra en medio WPM (Woody Plant Medium).

Se procede entonces a la estratificación en cámara fría (2°C) unos 2 meses.  
(Ilustración 16)

**Ilustración 16.- Embriones en cámara**



Cuando se rompe la latencia y empieza a germinar se trasladan a una cámara a 25°C durante una semana. (Ilustración 17)

### Ilustración 17.- Detalle plántula germinada



Comienza entonces la fase de aclimatación, se sacan las plántulas de los tubos y se pasan a alveolos o macetas manteniendo una elevada humedad. A lo largo de una semana se van retirando progresivamente los vasitos protectores que actúan a modo de invernadero aumentando la humedad (Ilustración 18).

### Ilustración 18.- Aclimatación gradual



Al cabo de una semana aproximadamente se trasladan las macetas a invernadero para continuar con el proceso de aclimatación (Ilustración 19). Este es un proceso muy delicado que requiere una gran atención, en estos momentos las plántulas aún son muy sensibles a los cambios bruscos de humedad y temperatura.

**Ilustración 19.- Plantas en invernadero**



## 4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1.- VIABILIDAD DE LOS CRUZAMIENTOS INTERESPECÍFICOS CON ALBARICOQUERO COMO PARENTAL FEMENINO

Los resultados obtenidos cuando el albaricoquero (*P. armeniaca*) actúa como parental femenino fueron en general muy satisfactorios, llegando a valores superiores al 30% de recolección de frutos en la hibridación de CEBAS 7-58 x Pioneer.

Hay una significativa diferencia en los porcentajes de fructificación en función de la variedad de albaricoquero utilizada, siendo el parental CEBAS 7-58 el que muestra los mejores resultados (Tabla 7). Por otra parte, también se observaron diferencias en los porcentajes de fructificación dependiendo de la variedad de ciruelo japonés utilizada como parental masculino, lo que pone de manifiesto una clara influencia de la variedad en el éxito de las polinizaciones.

El dato adicional del número de frutos a mitad de maduración nos hace observar que la mayor pérdida de frutos se produce después del cuajado y al principio del desarrollo del fruto.

Tabla 7.- Resultados de los cruzamientos albaricoquero x ciruelo japonés

| Albaricoque x Ciruela       | Flores Polinizadas | Frutos mitad maduración | Frutos recogidos | Porcentaje fructificación |
|-----------------------------|--------------------|-------------------------|------------------|---------------------------|
| Cebas 7-58 x Ciruelo 1      | 76                 | 31                      | 5                | 6,6%                      |
| Cebas 5-57 x Black Splendor | 73                 |                         | 4                | 5,5%                      |
| Cebas 5-57 x Pioneer        | 76                 |                         | 3                | 3,9%                      |
| Cebas 5-57 x Santa Rosa     | 74                 |                         | 9                | 12,2%                     |
| Cebas 5-57 x Honey Dawn     | 112                |                         | 9                | 8 %                       |
| Cebas 5-57 x Ciruelo 2      | 89                 |                         | 14               | 15,7%                     |
| Cebas 7-58 x Ciruelo 1      | 119                | 42                      | 17               | 14,3%                     |
| Cebas 7-58 x Ciruelo 2      | 183                | 127                     | 35               | 19,1%                     |
| Cebas 7-58 x Black Splendor | 331                | 228                     | 34               | 10,3%                     |
| Cebas 7-58 x Santa Rosa     | 129                | 65                      | 32               | 24,8%                     |
| Cebas 7-58 x Pioneer        | 197                | 97                      | 65               | 32,9%                     |
| Cebas 7-58 x Honey Dawn     | 145                | 59                      | 19               | 13,1%                     |
| Valor medio                 |                    |                         |                  | 14%                       |
| Desviación estándar         |                    |                         |                  | 8%                        |

#### 4.2.- VIABILIDAD DE LOS CRUZAMIENTOS INTERESPECÍFICOS CON CIRUELO JAPONÉS COMO PARENTAL FEMENINO

Cuando el parental femenino fue ciruelo japonés (*P. salicina*), se observó un gran número de flores polinizadas, debido a la gran densidad de floración que presenta esta especie (Tabla 8). Sin embargo, los resultados mostraron una reducción significativa del porcentaje de fructificación respecto al cruzamiento inverso. Así los porcentajes de fructificación fueron muy bajos, en todos casos inferiores al 5%.

**Tabla 8.- Resultados de los cruzamientos ciruelo japonés x albaricoquero**

| <b>Ciruela x albaricoque</b>       | <b>Flores polinizadas</b> | <b>Frutos recogidos</b> | <b>Porcentaje fructificación</b> |
|------------------------------------|---------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| <b>Ciruelo 1 x Cebas 7-58</b>      | 628                       | 17                      | 2,7%                             |
| <b>Ciruelo 1 x Cebas 5-57</b>      | 727                       | 15                      | 2,1%                             |
| <b>Honey Dawn x Cebas 7-58</b>     | 471                       | 7                       | 1,5%                             |
| <b>Honey Dawn x Cebas 5-57</b>     | 408                       | 10                      | 2,5%                             |
| <b>Black Splendor x Cebas 7-58</b> | 475                       | 19                      | 4%                               |
| <b>Black Splendor x Cebas 5-57</b> | 307                       | 11                      | 3,6%                             |
| <b>Valor medio</b>                 |                           |                         | 3%                               |
| <b>Desviación estándar</b>         |                           |                         | 1%                               |

No se apreciaron diferencias significativas en los cruzamientos dependiendo del parental masculino utilizado. Sin embargo, los resultados mostraron una cierta influencia de la variedad de ciruelo japonés utilizada como parental femenino (Tabla 8), por lo que deducimos que en este caso, es el parental femenino quien determina la mayor o menor eficiencia del cruzamiento. El cruzamiento de Black Splendor x CEBAS 7-58, con un 4% de fructificación fue el mejor resultado obtenido.

Los cruzamientos donde se utilizó la variedad Black Splendor como parental femenino presentó los mejores resultados con ambos parentales masculinos (Tabla 8).

#### 4.3.- VIABILIDAD DE LOS CRUZAMIENTOS ENTRE VARIEDADES DE CIRUELO JAPONÉS

Se procedió también a evaluar los resultados de los cruzamientos entre variedades de ciruelo japonés (Tabla 9). La finalidad de estos cruces es obtener descendencias interesantes dentro de la línea de investigación del CEBAS-CSIC en su objetivo de mejora de ciruelo japonés. Estos resultados nos han permitido comparar los resultados entre cruzamientos inraespecíficos (ciruelo x ciruelo) con las hibridaciones interespecífica.

**Tabla 9.- Resultados cruzamientos ciruelo japonés x ciruelo japonés**

| <b>Ciruela x Ciruela</b>           | <b>Flores polinizadas</b> | <b>Frutos recogidos</b> | <b>Porcentaje de cuajado</b> |
|------------------------------------|---------------------------|-------------------------|------------------------------|
| <b>Honey Dawn x Black Splendor</b> | 122                       | 27                      | 22,1%                        |
| <b>Honey Dawn x Ciruelo 1</b>      | 135                       | 28                      | 20,7%                        |
| <b>Honey Dawn x Santa Rosa</b>     | 72                        | 13                      | 18,1%                        |
| <b>Honey Dawn x Ciruelo 2</b>      | 107                       | 21                      | 19,6%                        |
| <b>Honey Dawn x Pioneer</b>        | 101                       | 12                      | 11,9%                        |
| <b>Black Splendor x Ciruelo 2</b>  | 103                       | 23                      | 22,3%                        |
| <b>Black Splendor x Santa Rosa</b> | 77                        | 5                       | 6,5%                         |
| <b>Valor medio</b>                 |                           |                         | 17%                          |
| <b>Desviación estándar</b>         |                           |                         | 6%                           |

Los resultados obtenidos, mostraron como era de esperar, mayores porcentajes de fructificación que en el caso a los cruzamientos interespecíficos, con valores entorno al 20%, para el cruzamiento de Black Splendor x Ciruelo 2 (22%). No obstante, estos valores de fructificación no difirieron mucho de los obtenidos en los cruzamientos interespecíficos donde se utilizó albaricoquero como parental femenino.



#### 4.4.- PORCENTAJE DE GERMINACIÓN DE SEMILLAS *IN VITRO*

La germinación de los embriones *in vitro* ha dado unos excelentes resultados, llegando al 100% de la germinación en 6 cruzamientos; 2 de ciruelo x ciruelo, 2 de ciruelo x albaricoquero y otros 2 de albaricoquero x ciruelo (Tabla 10). En general, los valores de porcentajes de germinación fueron muy elevados en todos los cruzamientos, lo que certifica la viabilidad de los embriones obtenidos en los diferentes cruzamientos interespecíficos.

**Tabla 10.- Resultado de la germinación *in vitro***

|                                | <b>Cruzamiento</b>          | <b>Porcentaje de germinación</b> |
|--------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| <b>Ciruelo x Ciruelo</b>       | Black Splendor x Ciruelo 2  | 79,74%                           |
|                                | Black Splendor x Santa Rosa | 66,67%                           |
|                                | Honey Dawn x Ciruelo 1      | 78,87%                           |
|                                | Honey Dawn x Ciruelo 2      | 100%                             |
|                                | Honey Dawn x Pioneer        | 100%                             |
| <b>Ciruelo x Albaricoquero</b> | Black Splendor x Cebas 7-58 | 100%                             |
|                                | Honey Dawn x Cebas 5-57     | 100%                             |
| <b>Albaricoquero x Ciruelo</b> | Cebas 7-58 x Pioneer        | 79,77%                           |
|                                | Cebas 5-57 x Pioneer        | 53,33%                           |
|                                | Cebas 5-57 x Santa Rosa     | 100%                             |
|                                | Cebas 7-58 x Ciruelo 2      | 59,46%                           |
|                                | Cebas 5-57 x Ciruelo 2      | 85%                              |
|                                | Cebas 7-58 x Ciruelo 1      | 89,89%                           |
|                                | Cebas 5-57 x Ciruelo 1      | 100%                             |
|                                | Cebas 7-58 x Black Splendor | 86,05%                           |
|                                | Cebas 5-57 x Black Splendor | 87,5%                            |
|                                | Cebas 7-58 x Honey Down     | 81,32%                           |
|                                | Cebas 5-57 x Honey Down     | 85,71%                           |
|                                |                             | Valor medio                      |
|                                | Desviación estándar         | 14%                              |

Se observan ciertas diferencias en función de la variedad en el caso de los cruzamientos interespecíficos, presentando el CEBAS 5-57 una mejor respuesta, en general, a la germinación cuando se usa como parental femenino (Tabla 10). En cuanto a los cruzamientos entre variedades de ciruelo japonés, Honey Dawn destaca presentando germinaciones del 100% de las semillas en su hibridación con Ciruelo 2, Pioneer y CEBAS 5-57.

## 5.- CONCLUSIONES

Los cruzamientos interespecíficos donde se utilizó el albaricoquero como parental femenino, mostraron valores medios de fructificación en torno al 15%, presentando un máximo el cruzamiento de Cebas 7-58 x Pioneer con un 32,9%. Estos porcentajes se pueden considerar elevados dado que se trata de cruzamientos interespecíficos, y teniendo en cuenta además, que las escasas experiencias previas habían mostrado resultados muy inferiores en este tipo de hibridaciones.

En el caso de los cruzamientos interespecíficos donde el ciruelo japonés se utilizó como parental femenino, los valores de fructificación fueron muy bajos, en torno al 3%. El mejor de los resultados se obtuvo para el cruzamiento Black Splendor x Cebas 7-58, con un 4% de fructificación.

Como era de esperar, en los cruces de ciruelo x ciruelo los resultados mostraron valores de fructificación superiores a las hibridaciones interespecíficas, presentando una media del 17% de éxito. Black Splendor x Ciruelo 2 presentó el mayor porcentaje de fructificación con 22,3% de frutos obtenidos respecto a flores polinizadas.

La viabilidad de los embriones obtenidos mediante su germinación y cultivo *in vitro* ha resultado muy satisfactoria en todos los cruzamientos realizados, llegando en muchos casos a viabilidades del 100% de germinación de los embriones con un valor medio del 85,18%.

Estos resultados ponen de manifiesto que no solo el cruzamiento interespecífico de estas dos especies de *Prunus* es viable, sino que además, también lo es la posterior germinación de las descendencias. Por tanto, los resultados obtenidos verifican la viabilidad de la obtención de genotipos interespecíficos (plumcots), en el marco del programa de mejora genética de ciruelo japonés llevado a cabo por el CEBAS-CSIC y el IMIDA de Murcia.

## 6.- BIBLIOGRAFÍA

**Baggiolini, M., (1952).**Stade Repères du pêcher. Rev. Rom. Agric. Vit. Arb. 4, 29.

**Cobianchi, D., Bergamini, A. y Cortesi A. (1988).** *El ciruelo*. Mundi-Prensa: Madrid, España.

**Coutanceau, M. (1965).** *Fruticultura*. Occidente: Barcelona, España.

**Feucht / Vogel / Schimmelpfeng / Treutter / Zinkernagel (2001).***Cultivo de cerezos y ciruelos*. Omega: Barcelona, España.

**Forte, V. (1992).** *El albaricoquero*. Mundi-Prensa: Madrid, España.

**Panavera Lladós, E. (2001).** *CIRUELO variedades, polinización y calibre*, Cap. 2 La Polinización

**Got, N. (1963).** *El albaricoquero*. Mundi-Prensa: Madrid, España

**Rodrigo, J. y Herrero M. (2000).** *Cuajados erráticos en albaricoquero. Polinización y calidad de flor*. Zaragoza: Institución <Fernando el Católico>

**Ruiz González, D. (1997).** *Mejora genética en albaricoque (Prunus armeniaca, L.): Calidad y precocidad*. Trabajo Fin de Carrera. Orihuela: Escuela Politécnica Superior de Orihuela.

**Ruíz, D., Egea, J., Ureña, R., García, F., Carrillo, A., Frutos, D., Cos, J. (2010).** Nuevo programa de mejora genética de ciruelo japonés (*Prunus salicina* Lindl). Actas de horticultura 55: 243-244

## BIBLIOGRAFÍA WEB

### **Industrias AFRASA. Estados fenológicos Albaricoque.**

<[http://www.afrasa.es/utilidades/estados-fenologicos/id\\_9/estados-fenologicos-del-albaricoque](http://www.afrasa.es/utilidades/estados-fenologicos/id_9/estados-fenologicos-del-albaricoque)> [Consulta: 21 Octubre 2015]

### **Industrias AFRASA. Estados fenológicos Ciruelo.**

<[http://www.afrasa.es/utilidades/estados-fenologicos/id\\_17/estados-fenologicos-del-ciruelo](http://www.afrasa.es/utilidades/estados-fenologicos/id_17/estados-fenologicos-del-ciruelo)> [Consulta: 21 Octubre 2015]

### **Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.**

<http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/publicaciones/anuario-de-estadistica/2013/default.aspx?parte=3&capitulo=13&grupo=9>

[Consulta: Octubre 2015]

### **FAOSTAT - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS**

<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>  
[Consulta: Octubre 2015]

