

## Determinación irreversible a la floración del aguacate 'Méndez' en el sur de Jalisco, México\*

## Irreversible determination of avocado flowering 'Méndez' in southern Jalisco, Mexico

Samuel Salazar-García<sup>1§</sup>, Martha Elva Ibarra-Estrada<sup>2</sup>, Arturo Álvarez-Bravo<sup>1</sup> y José González-Valdivia<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Carretera Internacional México-Nogales km 6. Entrada a Santiago Ixquintla, Nayarit. México. CP. 63300. Tel. 01 (55) 38718700, ext. 84426. (alvarez.arturo@inifap.gob.mx). <sup>2</sup>Investigadores independientes. (marthaibarraes@hotmail.com; vcm\_2969@prodigy.net.mx). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: salazar.avocado@gmail.com.

### Resumen

Durante el proceso del desarrollo que conduce a la floración un ápice vegetativo sufre la transición hacia reproductivo. En cierto punto, el proceso ya no es reversible y no puede ser modificado con tratamientos que inhiben la floración. A este proceso se le conoce como determinación irreversible a la floración (DIF). El objetivo de esta investigación fue determinar la fecha, estado de desarrollo de las yemas y la temperatura asociada cuando ocurre la DIF en los flujos vegetativos de invierno y verano del aguacate 'Méndez' en el sur de Jalisco, México. Se seleccionaron dos huertos y en cada uno de ellos se eligieron 10 árboles a los cuales se les etiquetaron 30 brotes de cada flujo vegetativo ocurrido en 2014 y 2015. Los tratamientos consistieron en anillado de la corteza y defoliación de brotes que se realizaron a intervalos mensuales en un brote de cada flujo vegetativo por árbol. En brotes de invierno y verano, la DIF ocurrió cuando el tratamiento fue aplicado el 26 de junio y el 26 de noviembre, respectivamente. Las yemas presentaron un estado anatómico similar al encontrado previamente para aguacate 'Hass' en otras regiones productoras. La DIF para brotes de invierno y verano fue asociada a temperaturas

### Abstract

During the process of development leading to flowering a vegetative apex undergoes the transition towards reproductive. At some point, the process is no longer reversible and cannot be modified with treatments that inhibit flowering. This process is known as irreversible flowering determination (DIF). The objective of this research was to determine the date, development stage of the buds and the associated temperature when DIF occurs in the winter and summer vegetative flows of 'Méndez' avocado in southern Jalisco, Mexico. Two orchards were selected and in each of them 10 trees were selected and 30 sprout of each vegetative flow occurred in 2014 and 2015. The treatments consisted of ringing of the bark and defoliation of sprout that were performed at monthly intervals in an outbreak of each vegetative flow per tree. In winter and summer outbreaks, DIF occurred when treatment was applied on June 26 and November 26, respectively. The buds presented an anatomical state similar to that previously found for 'Hass' avocado in other producing regions. DIF for winter and summer buds was associated with temperatures  $\leq 20$  and  $\leq 18^{\circ}\text{C}$ , respectively, and could be modeled mathematically.

\*Recibido: octubre de 2017

Aceptado: diciembre de 2017

$\leq 20$  y  $\leq 18$  °C, respectivamente, y pudo ser modelada matemáticamente. A partir del día cero (inicio de brotación vegetativa), los brotes de invierno y verano necesitaron 1 480 y 1 239.5 horas frío acumulados, respectivamente.

**Palabras clave:** *Persea americana* Mill., anillado, defoliación, desarrollo floral, horas frío.

## Introducción

Durante el proceso del desarrollo que conduce a la floración en las angiospermas, un ápice vegetativo sufre la transición hacia reproductivo (Salazar *et al.*, 1999). Este cambio ocurre en respuesta a mensajes bioquímicos (Rocha *et al.*, 2010) y moleculares (Pin y Nilsson, 2012) procedentes de hojas maduras. Al inicio del proceso de transición, algunas condiciones ambientales y/o prácticas de manejo del huerto, como una lluvia o riego abundante, temperatura cálida, poda, fertilización nitrogenada o biorreguladores vegetales pueden inhibir el proceso (Salazar *et al.*, 2013). Una vez percibidos y procesados los estímulos ambientales para la transformación de la yema vegetativa en reproductiva, el meristemo apical de la yema del aguacate cambia su forma de cónica a aplanada (Salazar *et al.*, 1998).

En cierto punto, después de la transición de la fase vegetativa a reproductiva el destino, tanto del ápice como de la yema no es reversible y no puede ser modificado con tratamientos que normalmente inhiben la floración. A este proceso se le conoce como determinación irreversible a la floración (DIF) (Salazar *et al.*, 1999). El conocer cuándo ocurre la DIF en aguacate es importante para programar las diversas prácticas de manejo del huerto ya sea para incrementar la intensidad de la floración o para promover el crecimiento vegetativo y disminuir la floración (Salazar *et al.*, 2006).

La defoliación y el anillado de brotes son técnicas de campo empleadas para determinar cuándo ocurre la DIF (Salazar *et al.*, 2006). Ambas promueven el crecimiento de las yemas en los brotes tratados, independientemente si se encuentran en estado vegetativo o reproductivo al momento del tratamiento. Las hojas mantienen a las yemas en una condición de paradormancia. La defoliación remueve este factor de inhibición del crecimiento forzando al brote a un rápido desarrollo, de ahí su utilidad como herramienta con tratamientos donde varían las fechas (Bernier *et al.*, 1981; Bernier, 1988).

From day zero (beginning of vegetative sprouting), winter and summer sprout required 1 480 and 1 239.5 cold accumulated hours, respectively.

**Keywords:** *Persea americana* Mill., cold hours, defoliation, floral development, ringing.

## Introduction

During the developmental process leading to flowering in the angiosperms, a vegetative apex undergoes the transition towards reproductive (Salazar *et al.*, 1999). This change occurs in response to biochemical messages (Rocha *et al.*, 2010) and molecular (Pin and Nilsson, 2012) from mature leaves. At the beginning of the transition process, some environmental conditions and/or orchard management practices, such as abundant rainfall or irrigation, warm temperature, pruning, nitrogen fertilization or plant bioregulators may inhibit the process (Salazar *et al.*, 2013). Once the environmental stimuli have been perceived and processed for the vegetative reproductive bud transformation, the apical meristem of the avocado bud changes from conical to flattened (Salazar *et al.*, 1998).

At a certain point, after the transition from the vegetative to the reproductive phase the fate of both the apex and bud is not reversible and cannot be modified with treatments that normally inhibit flowering. This process is known as irreversible flowering determination (DIF) (Salazar *et al.*, 2013). Knowing when DIF occurs in avocado is important for scheduling various orchard management practices either to increase flowering intensity or to promote vegetative growth and decrease flowering (Salazar *et al.*, 2006).

The defoliation and the ringing of outbreaks are field techniques used to determine when DIF occurs (Salazar *et al.*, 2006). Both promote bud growth in treated sprout, regardless of whether they are in a vegetative or reproductive state at the time of treatment. The leaves keep the buds in a dormancy condition. Defoliation removes this growth inhibition factor by forcing the outbreak to a rapid development, hence its usefulness as a tool with treatments where the dates vary (Bernier *et al.*, 1981; Bernier, 1988).

For its part, the ring is isolated from the rest of the tree and prevents the buds receiving biochemical messages from other parts of the plant that could stimulate flowering. If

Por su parte, el anillado aísla al brote del resto del árbol y evita que las yemas reciban mensajes bioquímicos de otras partes de la planta que pudieran estimular la floración. Si las yemas florecen, significa que al momento del tratamiento ya habían alcanzado la DIF y continuaron hacia la diferenciación floral (Salazar *et al.*, 2006). Esta técnica ha sido empleada en los aguacates ‘Hass’ (Salazar *et al.*, 2006; Dixon *et al.*, 2006; Rocha *et al.*, 2010), ‘Choquette’ y ‘Booth-8’ (Salazar *et al.*, 2008).

En los últimos años, el aguacate ‘Méndez No. 1’ (Plant Patent 11,173 USA 2002), referido aquí como ‘Méndez’ ha adquirido importancia en el sur del estado de Jalisco en donde existen más de 11 000 ha. La importancia económica de ‘Méndez’ se debe a que una proporción importante de su cosecha anual madura más temprano (verano) que la de ‘Hass’ (otoño- invierno). El fruto cosechado en verano usualmente alcanza el precio más alto del año (Salazar *et al.*, 2015).

En el sur de Jalisco el cv. Méndez comúnmente presenta dos flujos de crecimiento vegetativo (invierno y verano) y dos épocas de floración. La primera (principal) en otoño (septiembre) y la segunda en invierno (febrero). El conocer cuándo ocurre la DIF es importante para entender el desarrollo floral del aguacate y mejorar las prácticas de manejo de los huertos. El objetivo de esta investigación fue determinar la fecha, estado de desarrollo de las yemas y la temperatura asociada a la determinación irreversible a la floración en los dos principales flujos vegetativos del aguacate ‘Méndez’ en el sur de Jalisco, México.

## Materiales y métodos

### Características de los huertos

La investigación inició en febrero 2014 en dos huertos comerciales de aguacate ‘Méndez’ manejados con fertiriego, suelo Feozem háplico y clima Semicálido subhúmedo [AC(w)] (García, 1998) del sur del estado de Jalisco. Los huertos “Colorín 1” y “Ocote cuate 2” se encuentran a distanciamientos de 7×3.5 y 5×5 m, tienen cuatro y seis años de edad y se ubican a 1 556 y 1 428 m de altitud, respectivamente. En cada huerto se seleccionaron 10 árboles y en cada uno de ellos se marcaron 30 brotes de cada flujo vegetativo (invierno o verano) ocurridos en 2014 y 2015.

the buds bloom, it means that at the time of treatment they had already reached DIF and continued towards floral differentiation (Salazar *et al.*, 2006). This technique has been used in ‘Hass’ avocados (Salazar *et al.*, 2006; Dixon *et al.*, 2006; Rocha *et al.*, 2010), ‘Choquette’ and ‘Booth-8’ (Salazar *et al.*, 2008).

In recent years, ‘Méndez No. 1’ (Plant Patent 11,173 USA 2002), here referred to as ‘Méndez’, has acquired importance in the southern state of Jalisco, where there are more than 11 000 ha. The economic importance of ‘Méndez’ is due to the fact that a significant proportion of its annual crop matures earlier (summer) than ‘Hass’ (autumn-winter). The fruit harvested in summer usually reaches the highest price of the year (Salazar *et al.*, 2015).

In the south of Jalisco cv. Méndez commonly presents two vegetative growth flows (winter and summer) and two flowering seasons. The first (main) in autumn (September) and the second in winter (February). Knowing when DIF occurs is important for understanding avocado flower development and improving orchard management practices. The objective of this research was to determine the date, stage of development of the buds and the temperature associated to the irreversible determination to flowering in the two main vegetative flows of ‘Méndez’ avocado in southern Jalisco, Mexico.

## Materials and methods

### Characteristics of orchards

The research started in February 2014 in two commercial ‘Méndez’ avocado orchards managed with Fertigation, Feozem haplic soil and subhumid sub-humid climate [AC(w)] (García, 1998) from the southern state of Jalisco. The “Colorín 1” and “Ocote cuate 2” orchards are at distances of 7×3.5 and 5×5 m, are four and six years old and are located at 1 556 and 1 428 m altitude, respectively. In each orchard, 10 trees were selected and 30 sprout of each vegetative flow (winter or summer) occurred in each of them in 2014 and 2015.

### Ringing and defoliation of sprout

Treatments were carried out in 2014 and 2015 at monthly intervals and began in march and october for outbreaks of vegetative flows of winter and summer, respectively. For

## Anillado y defoliación de brotes

Los tratamientos se realizaron en 2014 y 2015 a intervalos mensuales e iniciaron en marzo y octubre para brotes de los flujos vegetativos de invierno y verano, respectivamente. Por cada año y huerto, en cada fecha de tratamiento (cinco y seis fechas para los flujos de verano e invierno, respectivamente) se anilló y defolió un brote por árbol, de un total de 10 árboles por huerto. La defoliación consistió en la eliminación manual de todas las hojas de los dos últimos flujos de crecimiento vegetativo. Para el anillado se removió una franja completa de corteza de 2 cm de ancho en la parte basal del penúltimo crecimiento. Los tratamientos se suspendieron cuando las yemas apicales de los brotes alcanzaron el estado de desarrollo E-6 según la escala visual de Salazar *et al.* (1998). Por cada año, huerto y flujo vegetativo fueron considerados 25 brotes testigos los cuales no fueron alterados.

## Estado de desarrollo floral

En cada fecha de tratamiento se colectó una yema apical por árbol de cada uno de los flujos vegetativos. Las yemas fueron fijadas en FAA (formaldehído:ácido acético:etanol, 5:5:90, v:v:v) y después introducidas a una campana de vacío (Nalgene 8040317, Nalgen Company) a 30 KPa por 5 h. Posteriormente fueron clasificadas bajo un microscopio estereoscópico (Zeiss Stereomikroskop Mod. Stemi 2000-C, Carl Zeiss, Göttingen, Germany), con los estados (E) de desarrollo de la escala visual de Salazar-García *et al.* (1998) la cual comprende de E-1 (yema vegetativa) a E-11 (anthesis). En total, para cada año, por todas las fechas de tratamiento fueron colectadas 60 y 50 yemas de los flujos de invierno y verano, respectivamente.

Una vez identificada la fecha en que ocurrió la DIF se realizó la caracterización anatómica de las yemas que alcanzaron este estado de desarrollo. Las yemas se extrajeron del FAA y se lavaron con agua corriente y luego se deshidrataron con alcohol y xileno. Posteriormente, fueron incluidas en parafina (Ruzin, 1999). Se obtuvieron secciones anatómicas longitudinales con un micrótomo rotatorio (HM 350S, Walldorf, Germany) y grosor de 8  $\mu\text{m}$ , se montaron en portaobjetos y tiñeron con safranina y verde fijo (Ruzin, 1999). Al final se les aplicó bálsamo de Canadá y fueron protegidas con cubreobjetos. Las secciones fueron fotografiadas con una cámara digital (Canon modelo Power Shot G11. NY. USA) montada en un microscopio óptico (Zeiss HBO 50/AC, Carl Zeiss, Göttingen, Germany).

each year and orchard, at each treatment date (five and six dates for the summer and winter flows, respectively), one outbreak per tree was banned and defoliated, out of a total of 10 trees per orchard. The defoliation consisted in the manual removal of all leaves from the last two vegetative growth streams. For the ringing, a full strip of bark 2 cm wide was removed in the basal part of the penultimate growth. Treatments were discontinued when shoot apical buds reached developmental stage E-6 according to the visual scale of Salazar *et al.* (1998). For each year, orchard and vegetative flow were considered 25 control sprouts, which were not altered.

## Floral development status

At each treatment date an apical bud per tree was collected from each of the vegetative flows. The buds were fixed in FAA (formaldehyde: acetic acid: ethanol, 5:5:90, v:v:v) and then introduced into a vacuum hood (Nalgene 8040317, Nalgen Company) at 30 KPa for 5 h. Later they were classified under a stereomicroscopic microscope (Zeiss Stereomikroskop Mod. Stemi 2000-C, Carl Zeiss, Göttingen, Germany), with the states (E) of visual scale development of Salazar-García *et al.* (1998) which comprises from E-1 (vegetative bud) to E-11 (anthesis). In total, for each year, 60 and 50 buds of the winter and summer flows, respectively, were collected for all treatment dates.

Once the DIF date was identified, the anatomical characterization of the buds that reached this stage of development was performed. The buds were extracted from the FAA and washed with tap water and then dehydrated with alcohol and xylene. Subsequently, they were included in paraffin (Ruzin, 1999). Longitudinal anatomical sections were obtained with a rotating microtome (HM 350S, Walldorf, Germany) and 8  $\mu\text{m}$  thick, mounted on slides and stained with safranin and fixed green (Ruzin, 1999). At the end they were applied balm from Canada and were protected with coverslips. The sections were photographed with a digital camera (Canon Power Shot G11, NY, USA) mounted on an optical microscope (Zeiss HBO 50/AC, Carl Zeiss, Göttingen, Germany).

## Type of growth produced

The type of growth (floral, vegetative or inactive sprout) produced by the apical buds of both treated and control sprout was quantified at the end of each flowering period. For the vegetative flows of winter and summer 2014 the evaluations

## **Tipo de crecimiento producido**

El tipo de crecimiento (brotes florales, vegetativos o inactivos) producido por las yemas apicales tanto de los brotes tratados como del testigo se cuantificó al término de cada periodo de floración. Para los flujos vegetativos de invierno y verano 2014 las evaluaciones fueron en octubre 2014 y marzo 2015, respectivamente. En el caso de brotes de los flujos de invierno y verano 2015, la evaluación se realizó en noviembre 2015 y abril 2016, respectivamente.

## **Cálculo de horas frío (HF)**

En cada huerto fue registrada cada hora la temperatura del aire. Se utilizaron registradores automatizados HOBO H8 (Onset Computer, Witzprod, Englewood Cliffs, NJ, USA) operados con baterías. De forma independiente para brotes de los flujos vegetativos de invierno y verano, se cuantificó la ocurrencia de temperaturas mínimas, desde 8 a 20 °C, en incrementos de 1 °C que pudieran asociarse con la fecha de la DIF. Se empleó la fórmula:  $HF = (T_{mín} \leq T, 1,0)$ ; donde:  $T_{mín}$ = temperatura mínima registrada cada hora;  $T$ = temperatura crítica, de 8 a 20 °C. Si se cumple la condición de temperatura, entonces el valor de HF es 1, en caso contrario es 0. Mediante el gestor de bases de datos Microsoft Access Versión 14 se sumaron los registros horarios de temperatura organizados desde 8 a 20 °C, en incrementos de 1 °C. Los valores de HF<sub>8</sub> hasta HF<sub>20</sub>, se acumularon para cada periodo de defoliación y anillado.

A estos valores se les denominó horas frío acumuladas (HFA). Para los flujos vegetativos de invierno y verano se consideró como día cero cuando las yemas apicales estaban en E-1 (etapa vegetativa), lo que ocurrió en febrero y agosto, respectivamente.

## **Identificación de la temperatura asociada con la DIF**

Las HFA se usaron como variables independientes y el desarrollo floral de yemas apicales en brotes de cada flujo como variable dependiente. Posteriormente, se usó el procedimiento Stepwise SAS/STAT (SAS Institute Inc., 9.2.) para seleccionar el mejor modelo por orden de respuesta (segundo hasta quinto orden) para cada temperatura crítica (a partir de ≤ 8 °C hasta ≤ 20 °C, en intervalos de 1 °C). Los criterios para elegir los mejores modelos fueron: 1) valor de R<sup>2</sup>; 2) el menor cuadrado medio del error (CME); y 3) el valor de Cp, sugerido por Mellows (Draper y Smith, 1981).

were in October 2014 and March 2015, respectively. In the case of outbreaks of winter and summer flows 2015, the evaluation was carried out in November 2015 and April 2016, respectively.

## **Calculation of cold hours (HF)**

In each orchard the air temperature was recorded every hour. Automated HOBO H8 (Onset Computer, Witzprod, Englewood Cliffs, NJ, USA) battery operated registers were used. Independently for outbreaks of vegetative flows of winter and summer, the occurrence of minimum temperatures, from 8 to 20 °C, was quantified in increments of 1 °C that could be associated with the date of DIF. The formula:  $HF = (T_{mín} \leq T, 1,0)$ ; where:  $T_{mín}$ = minimum temperature recorded every hour;  $T$ = critical temperature, 8 to 20 °C. If the temperature condition is met, then the value of HF is 1, otherwise it is 0. Using the Microsoft Access Version 14 database manager, the hourly temperature records organized from 8 to 20 °C were added in increments of 1 °C. The values of HF<sub>8</sub> to HF<sub>20</sub>, were accumulated for each period of defoliation and ringing.

These values were called accumulated cold hours (HFA). For vegetative flows of winter and summer it was considered as day zero when the apical buds were in E-1 (vegetative stage), which occurred in February and August, respectively.

## **Identification of temperature associated with DIF**

HFA were used as independent variables and the floral development of apical buds in buds of each flow as a dependent variable. Subsequently, the Stepwise SAS/STAT procedure (SAS Institute Inc., 9.2.) was used to select the best response order model (second through fifth order) for each critical temperature (from ≤ 8 °C to ≤ 20 °C, in 1 °C intervals). The criteria for choosing the best models were: 1) R<sup>2</sup> value; 2) the smallest mean error square (CME); and 3) the value of Cp, suggested by Mellows (Draper and Smith, 1981).

## **Obtaining the values of the mathematical coefficients.**

Once the best models were identified, their mathematical coefficients ( $B_0, \dots, B_n$ ) were calculated by the REG procedure using the HFA, from ≤ 8 °C to ≤ 20 °C, at intervals of 1 °C.

## **Validation of prediction models**

For the outbreaks of each vegetative flow the ability to predict the DIF of the best prediction models obtained in year 1 against the same vegetative flow in year 2

## Obtención de valores de los coeficientes matemáticos.

Una vez identificados los mejores modelos, se calcularon sus coeficientes matemáticos ( $B_0, \dots, B_n$ ) por el procedimiento REG utilizando las HFA, a partir de  $\leq 8^{\circ}\text{C}$  hasta  $\leq 20^{\circ}\text{C}$ , en intervalos de  $1^{\circ}\text{C}$ .

## Validación de los modelos de predicción

Para los brotes de cada flujo vegetativo se evaluó la capacidad para predecir la DIF de los mejores modelos de predicción obtenidos en el año 1 contra el mismo flujo vegetativo en el año 2, y viceversa. Los valores de desarrollo floral predichos fueron analizados mediante una regresión contra los valores observados del desarrollo floral del año y flujo vegetativo correspondiente, utilizando el programa Excel (2010). Los criterios para determinar si los valores de los dos años pertenecían a una sola población fueron: 1) que la ordenada al origen de la regresión fuera lo más cercana a uno ( $B_0=1$ ); 2), que la pendiente fuera lo más aproximada a uno ( $B_1=1$ ); y 3) el mayor valor del coeficiente del modelo ajustado ( $R^2$ ). Este procedimiento sirvió para depurar modelos y encontrar el mejor.

## Generación de un modelo único para predecir la DIF en cada flujo vegetativo

Posterior a la verificación de la no diferencia entre años, se obtuvo un modelo de regresión integrando la información de los dos años en un solo conjunto de datos, para cada flujo vegetativo.

## Análisis de la información

Para el tipo de crecimiento producido por los brotes se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con diferente número de tratamientos (fechas de defoliación y anillado) y 10 repeticiones (brotes). Para los brotes de invierno, el análisis estadístico fue hecho como factorial de la forma  $2 \times 2 \times 7$  (años  $\times$  huertos  $\times$  tratamientos) y para los brotes de verano se utilizó un factorial  $2 \times 2 \times 6$  (años  $\times$  huertos  $\times$  tratamientos). Previo a su análisis, los valores expresados en porcentaje fueron transformados mediante el arcoseno  $\sqrt{X+0.5}$  (Steel y Torrie, 1984), aunque en los resultados se presentan los valores reales. La comparación de medias fue hecha con la prueba de comparación múltiple de Waller-Duncan,  $p \leq 0.05$ .

was evaluated, and vice versa. The predicted floral development values were analyzed by a regression against the observed values of the floral development of the year and corresponding vegetative flow using the program Excel (2010). The criteria for determining whether the two-year values belonged to a single population were: 1) that the ordinate at the origin of the regression was closest to one ( $B_0=1$ ); 2), that the slope is the closest to one ( $B_1=1$ ); and 3) the highest value of the adjusted model coefficient ( $R^2$ ). This procedure served to debug models and find the best.

## Generation of a unique model to predict DIF in each vegetative flow

After the verification of the non-difference between years, a regression model was obtained integrating the information of the two years into a single data set, for each vegetative flow.

## Analysis of the information

For the type of growth produced by the outbreaks, a completely randomized design with different treatments (dates of defoliation and ringing) and 10 replicates (sprout) was used. For winter buds, statistical analysis was made as a factorial of the form  $2 \times 2 \times 7$  (years  $\times$  orchards  $\times$  treatments) and for the summer sprout a factorial  $2 \times 2 \times 6$  (years  $\times$  orchards  $\times$  treatments) was used. Previous to their analysis, the values expressed as a percentage were transformed using the arcoseno  $\sqrt{X+0.5}$  Steel and Torrie, 1984), although the results show the actual values. The comparison of means was done with the multiple comparison test Waller-Duncan,  $p \leq 0.05$ .

## Results and discussion

The information available on defoliation and ringing (single or combined) of outbreaks for studies on initial floral development in woody warm-season fruit trees is scarce. The papers related to this subject are those of Erner (1988) in citrus, Pérez *et al.* (2006) in mango and those of Salazar *et al.* (2006) and Dixon *et al.* (2016) in 'Hass' avocado. All of them have been to be effective in determining the time in which the DIF occurs.

## Resultados y discusión

La información disponible sobre defoliación y anillado (solos o combinados) de brotes para realizar estudios de desarrollo floral inicial en frutales leñosos de clima cálido es escasa. Los trabajos relacionados con este tema son de Erner (1988) en cítricos, Pérez *et al.* (2006) en mango y Salazar *et al.* (2006); Dixon *et al.* (2016) en aguacate 'Hass'. Todos ellos han sido efectivos en determinar el tiempo en que ocurre la DIF.

**Cuadro 1. Análisis de la varianza para el tipo de crecimiento producido por brotes del flujo de invierno 2014 y 2015 que fueron defoliados y anillados en aguacate 'Méndez'. Conjunto de datos de los huertos Colorín 1 y Ocote cuate 2.**

**Table 1. Analysis of the variance for the type of growth produced by winter flow outbreaks 2014 and 2015 that were defoliated and ringed in 'Méndez' avocado. Set of data of the orchard Colorín 1 and Ocote cuate 2.**

Variable	Fuente	GL	SC	CM	F	Pr> F
Inflorescencias	Años	1	5.46	5.46	0.92	0.3396
	Huertos	1	21.47	21.47	3.63	0.0605
	Tratamientos	6	468.6	78.1	13.2	0.0001
	Huertos* años	1	0.016	0.016	0	0.9584
	Año*tratamiento	6	18.75	3.12	0.53	0.7854
Vegetativos	Años	1	18.57	18.57	3.29	0.0734
	Huertos	1	26.87	26.87	4.77	0.032
	Tratamientos	6	139.27	23.21	4.12	0.0012
	Años* huertos	1	5.49	5.49	0.97	0.3265
	Año* tratamiento	6	40.33	6.72	1.19	0.3195
Inactivos	Años	1	0.35	0.35	0.05	0.8322
	Huertos	1	0.28	0.28	0.04	0.8489
	Tratamientos	6	143.52	23.92	3.02	0.0105
	Años* huertos	1	47.41	47.46	5.99	0.0166
	Año* tratamiento	6	7.93	1.32	0.17	0.9848

Fechas de evaluación: 28 de octubre de 2014 y 26 de noviembre de 2015.

### Tipo de crecimiento producido en respuesta a los tratamientos

#### Brotos de invierno

No se detectaron diferencias en la producción de inflorescencias entre los dos años de estudio o entre los dos huertos experimentales, aunque sí se detectaron para las fechas de tratamiento. Tampoco hubo diferencias en la producción de brotes vegetativos entre los años 2014 y 2015, aunque sí para huertos y fechas de tratamiento (Cuadro 1).

### Type of growth produced in response to treatments

#### Winter Sprouts

There were no differences in inflorescence production between the two years of study or between the two experimental orchards, although for the dates of treatment. There were also no differences in the production of vegetative sprout between 2014 and 2015, although for orchards and treatment dates (Table 1).

The type of growth produced by winter sprout (data from both orchards) was not affected by the year of study (Table 1). Comparing between orchards, there were only differences in the production of vegetative sprout and the orchard Ocote cuate 2 presented a higher proportion (66.1%) than Colorín 1 (53%) (Table 2).

The response to the dates in which the defoliation and ringing was made indicated that as of May 28, 5.6% of buds reached the DIF since they produced inflorescences. However, for June 26, this proportion increased to 41%, surpassing the witness (22.2%) (Table 3).

**Cuadro 2. Efecto de huerto y año sobre el tipo de crecimiento producido por brotes del flujo de invierno 2014 y 2015 en aguacate ‘Méndez’. Huertos Colorín 1 y Ocote cuate 2.****Table 2. Effect of orchard and year on the type of growth produced by outbreaks of winter flow 2014 and 2015 in ‘Méndez’ avocado. Orchard Colorín 1 and Ocote cuate 2.**

Años	N <sup>z</sup>	Tipo de crecimiento producido por brotes de invierno (%)		
		Inflorescencia de verano	Vegetativo	Inactivo
2014	170	18.8 a <sup>y</sup>	65 a	16.2 a
2015	170	28.1 a	53.9 a	18 a
Pr>F		0.3396	0.0734	0.8322
Huertos:				
Colorín 1	170	29.8 a	53 b	17.2 a
Ocote cuate 2	170	17.3 a	66.1 a	16.6 a
Pr>F		0.0605	0.032	0.8489

Fechas de evaluación: 28 de octubre de 2014 y 26 de noviembre de 2015; <sup>z</sup>= brotes evaluados, 10 brotes tratados por fecha × 6 fechas × 2 huertos, incluye 25 brotes del testigo por huerto (50 total); <sup>y</sup>= comparación de medias en las columnas para años o huertos por Waller-Duncan,  $p \leq 0.05$ .

**Cuadro 3. Efecto de la fecha de defoliación y anillado sobre el tipo de crecimiento producido por brotes del flujo de invierno 2014 y 2015 en aguacate ‘Méndez’. Conjunto de datos de los huertos Colorín 1 y Ocote cuate 2.****Table 3. Effect of the date of defoliation and ringing on the type of growth produced by winter flow outbreaks 2014 and 2015 in ‘Méndez’ avocado. Set of data of the orchard Colorín 1 and Ocote cuate 2.**

Fecha de tratamiento (2014 y 2015)	N <sup>z</sup>	DY <sup>y</sup>	Tipo de crecimiento producido por brotes de invierno (%)		
			Inflorescencias de verano	Vegetativo	Inactivo
28 marzo	40	2.2	0 c <sup>x</sup>	90.3 a	9.72 ab
28 abril	40	3.3	0 c	76.4 a	23.6 ab
28 mayo	40	3.5	5.6 bc	73.6 ab	20.8 ab
26 junio	40	3.7	41 a	53.5 bc	5.5 b
28 julio	40	5.5	49.4 a	39.6 c	11.1 ab
28 agosto	40	6.4	39.6 a	52.1 bc	8.3 ab
Testigo	100		22.2 b	47.8 c	30 a
Pr> F			0.0001	0.0012	0.0105

Fechas de evaluación: 28 de octubre de 2014 y 26 de noviembre de 2015; <sup>z</sup>= número de brotes evaluados, 10 brotes tratados en cada fecha de tratamiento × 2 años × 2 huertos. Incluye 25 brotes del testigo × 2 huertos × 2 años; <sup>y</sup>= mediana de las etapas de desarrollo floral según la escala visual de Salazar-García *et al.* (1998); <sup>x</sup>= comparación de medias en las columnas por Waller-Duncan,  $p \leq 0.05$ .

El tipo de crecimiento producido por los brotes de invierno (datos de ambos huertos) no fue afectado por el año de estudio (Cuadro 1). Al comparar entre huertos, sólo hubo diferencias en la producción de brotes vegetativos y el huerto Ocote cuate 2 presentó mayor proporción (66.1%) que el Colorín 1 (53%) (Cuadro 2).

La respuesta a las fechas en que se hizo la defoliación y anillado indicó que a partir del 28 de mayo 5.6% de yemas alcanzaron la DIF ya que produjeron inflorescencias. Sin embargo, para el 26 de junio, esta proporción se incrementó a 41%, superando al testigo (22.2%) (Cuadro 3).

For the treatment applied on June 26 the median floral development stage was E-3.7. This means that the highest bud population of winter sprout reached DIF by june 26 with a developmental state between E-3 and E-4, according to the Salazar *et al.* (1998). The buds in E-3 have the following external characteristics: closed apical bud and partial senescence of the yolk scale. In the case of E-4, its characteristics are: the scales of the buds have separated and the bracts of the inflorescence expand to all sides of the bud. E-3 has been associated with the transition from the vegetative to the reproductive phase in ‘Hass’ avocado in California (Salazar *et al.*, 1998).

Para el tratamiento aplicado el 26 de junio la mediana del estado de desarrollo floral fue E-3.7. Esto significa que la mayor población de yemas de los brotes de invierno alcanzó la DIF para el 26 de junio con un estado de desarrollo entre E-3 y E-4, según la escala de Salazar et al. (1998). Las yemas en E-3 presentan las siguientes características externas: yema apical cerrada y senescencia parcial de la escama de la yema. En el caso del E-4, sus características son: las escamas de las yemas se han separado y las brácteas de la inflorescencia se expanden hacia todos los lados de la yema. El E-3 ha sido asociado con la transición de la fase vegetativa a la reproductiva en aguacate 'Hass' en California (Salazar et al., 1998).

### **Brotes de verano**

En brotes de verano el análisis factorial para la producción de inflorescencias mostró diferencias entre huertos, entre tratamientos y en la interacción huertos\*años (Cuadro 4). Algo similar ocurrió para la producción de brotes vegetativos, aunque en este caso sólo hubo diferencias significativas entre huertos y entre tratamientos. La presencia de brotes inactivos resultó significativa para tratamientos y para la interacción año\*tratamiento.

En el Colorín 1 se produjo mayor cantidad de inflorescencias (35%) y menor de brotes vegetativos (43.7%) que en Ocote cuate 2 (24.4 y 54%, respectivamente) (Cuadro 5). Respecto al efecto de los tratamientos para identificar la fecha de la DIF, los brotes del flujo vegetativo de verano 2014 y 2015 tratados en septiembre y octubre, no produjeron inflorescencias (Cuadro 6) y más de 68% de brotes vegetativos. La producción de inflorescencias (25.7%) por los brotes tratados se presentó a cuando la defoliación y anillado se hicieron a partir del 26 noviembre. Para esta fecha, la mediana del estado de desarrollo de las yemas fue E-3.2.

Como ya se mencionó, en el cv. Méndez la DIF ocurrió en dos épocas, según el tipo de brote. En brotes del flujo vegetativo de invierno ocurrió a partir del 26 de junio y en brotes de verano a partir del 26 de noviembre. Lo anterior difiere de lo encontrado en el clima cálido del estado de Nayarit, México en donde los brotes de primavera e invierno del cv. Choquette alcanzaron la DIF en la misma fecha (15 noviembre) (Salazar et al., 2008); en esta misma región, tanto los brotes de invierno como de verano del cv. Hass alcanzaron la DIF el 15 de octubre (Salazar et al., 2006) y en el cv. Booth 8 la DIF en brotes de verano ocurrió

### **Summer buds**

In summer buds the factor analysis for inflorescences production showed differences between orchards, between treatments and in the interaction of orchards\*years (Table 4). Something similar occurred for the production of vegetative sprout, although in this case there were only significant differences between orchards and between treatments. The presence of inactive outbreaks was significant for treatments and for the year\*treatment interaction.

In Colorín 1, more inflorescences (35%) and less vegetative sprout (43.7%) occurred than in Ocote cuate 2 (24.4 and 54%, respectively) (Table 5). Regarding the effect of the treatments to identify the DIF date, the summer and 2014 vegetative flow outbreaks treated in September and October did not produce inflorescences (Table 6) and more than 68% of vegetative sprout. The production of inflorescences (25.7%) by the treated sprout was presented when the defoliation and ringing were made as of November 26. By this date, the median development stage of the buds was E-3.2.

As already mentioned, in cv. Méndez the DIF occurred in two periods, according to the type of outbreak. In outbreaks of winter vegetative flow occurred from June 26 and summer sprout from 26 November. The foregoing differs from that found in the warm climate of the state of Nayarit, Mexico, where the spring and winter buds of cv. Choquette reached DIF on the same date (November 15) (Salazar et al., 2008); in this same region, both winter and summer sprout of cv. Hass reached DIF on October 15 (Salazar et al., 2006) and in cv. Booth 8 the DIF in summer sprout occurred for November 30th. In New Zealand 'Hass' sprout emerged in spring (autumn for the Northern Hemisphere) reached DIF in autumn (Spring for the Northern Hemisphere) (Dixon et al., 2006). This shows the influence of the environmental conditions of each producing region on the phenology of each avocado cultivar, in this case, the period in which DIF occurs.

### **Microscopic characteristics of the apical buds irreversibly determined to flowering**

The buds collected from 'Méndez' for both vegetative flows macroscopically appeared more developed than the 'Hass' described for California (Salazar et al., 1998) and Nayarit (Salazar et al., 2007), so that they appeared E-4. However, microscopically, it was confirmed

para el 30 de noviembre. En Nueva Zelanda los brotes de 'Hass' emergidos en primavera (otoño, para el hemisferio norte) alcanzaron la DIF en otoño (primavera para el hemisferio norte) (Dixon *et al.*, 2006). Lo anterior, evidencia la influencia de las condiciones ambientales propias de cada región productora sobre la fenología de cada cultivar de aguacate, en este caso, la época en que ocurre la DIF.

that they corresponded to E-3, whose characteristics are: meristem of the primary axis in convex form, presence of meristems of secondary axes of the inflorescence and of the scales that cover the yolk (Figure 1). Accordingly, the buds initially classified as E-4 were reclassified to E-3. Developmental status E-3 has already been associated with DIF in 'Hass' avocado (Salazar *et al.*, 1999).

**Cuadro 4. Análisis de varianza para el tipo de crecimiento producido por brotes del flujo de verano 2014 y 2015 que fueron defoliados y anillados en árboles de aguacate 'Méndez'. Conjunto de datos de los huertos Colorín 1 y Ocote cuate 2.**

**Table 4. Analysis of the variance for the type of growth produced by summer flow outbreaks 2014 and 2015 that were defoliated and ringed in 'Méndez' avocado trees. Set of data of the orchard Colorín 1 and Ocote cuate 2.**

Variable analizada	Fuente	GL	SC	CM	F	Pr>F
Inflorescencias	Años	1	1.056	1.06	0.24	0.6274
	Huertos	1	33.43	33.43	7.53	0.0074
	Tratamientos	5	525.88	105.18	23.68	0.0001
	Huertos*años	1	36.81	36.81	8.29	0.0052
	Año*tratamiento	5	3.29	0.66	0.15	0.98
Vegetativos	Años	1	7.92	7.92	1.34	0.2505
	Huertos	1	23.93	23.93	4.05	0.0478
	Tratamientos	5	142.71	28.54	4.83	0.0007
	Años*huertos	1	0.75	0.75	0.13	0.7227
	Año*tratamiento	5	46.65	9.33	1.58	0.1765
Inactivos	Años	1	18.04	18.04	2.81	0.0978
	Huertos	1	0.02	0.02	0	0.9532
	Tratamientos	5	80.32	16.06	2.5	0.0378
	Años*huertos	1	13.58	13.58	2.12	0.15
	Año*tratamiento	5	99.15	19.83	3.09	0.0138

Fechas de evaluación: 25 de marzo de 2015 y 13 de abril de 2016.

**Cuadro 5. Efecto de huerto y años sobre el tipo de crecimiento producido por brotes del flujo de verano 2014 y 2015 en aguacate 'Méndez'. Huertos Colorín 1 y Ocote cuate 2.**

**Table 5. Effect of orchard and years on the type of growth produced by outbreaks of summer flow 2014 and 2015 in 'Méndez' avocado. Orchards Colorín 1 and Ocote cuate 2.**

Años	N <sup>z</sup>	Tipo de crecimiento producido por brotes de verano (%)		
		Inflorescencias de invierno	Vegetativo	Inactivo
2014	150	29	46.8	24.1
2015	150	29.9	51	19
Pr>F		0.6274	0.2505	0.0978
Huertos:				
Colorín 1	150	35.0 a <sup>y</sup>	43.7 b	21.3
Ocote cuate 2	150	24.4 b	54 a	21.6
Pr>F		0.0074	0.0478	0.9532

<sup>z</sup>= brotes evaluados, 10 brotes tratados por fecha × 5 fechas × 2 huertos, incluye 25 brotes del testigo por huerto (50 total); <sup>y</sup>= comparación de medias en las columnas para años o huertos por Waller-Duncan,  $p \leq 0.05$ .

**Cuadro 6. Efecto de la fecha de defoliación y anillado sobre el tipo de crecimiento producido por brotes del flujo de verano 2014 y 2015 en aguacate 'Méndez'. Conjunto de datos de los huertos Colorín 1 y Ocote cuate 2.**

**Table 6. Effect of the date of defoliation and ringing on the type of growth produced by outbreaks of summer flow 2014 and 2015 in 'Méndez' avocado. Set of data of the orchard Colorín 1 and Ocote cuate 2.**

Fecha de tratamiento (2015 y 2016)	N <sup>z</sup>	DY <sup>y</sup>	Tipo de crecimiento producido por brotes de verano (%)		
			Inflorescencias de invierno	Vegetativo	Inactivo
26 septiembre	40	2.1	0 d <sup>x</sup>	68.1 ab	31.9 a
26 octubre	40	2.8	0 d	76.4 a	23.6 ab
26 noviembre	40	3.2	25.7 c	43.8 cd	30.6 a
26 diciembre	40	5.6	31.9 bc	56.3 bc	11.8 b
26 enero	40	6.2	54.9 a	35.4 d	9.7 b
Testigo	100		45.1 b	33.5 d	21.4 ab
Pr>F			0.0001	0.0007	0.0378

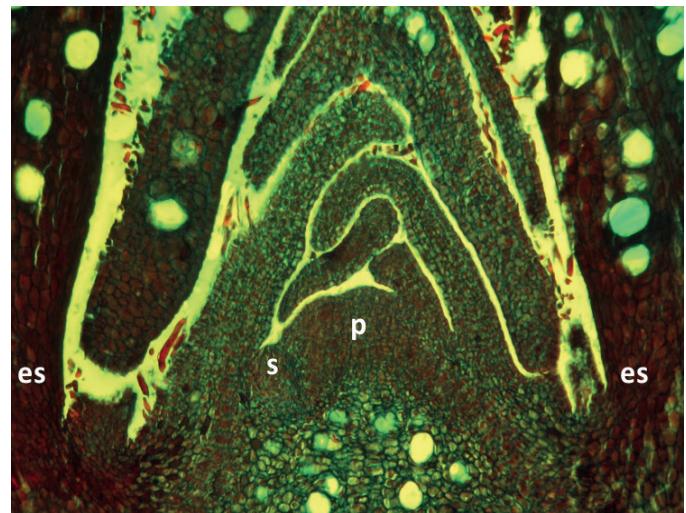
Fecha de evaluación: 25 de marzo de 2015 y 13 de abril 2016; <sup>z</sup>= número de brotes evaluados, 10 brotes tratados en cada fecha de tratamiento  $\times$  2 años  $\times$  2 huertos; incluye 25 brotes del testigo  $\times$  2 huertos  $\times$  2 años; <sup>y</sup>= mediana de las etapas de desarrollo floral según la escala visual de Salazar-García *et al.* (1998); <sup>x</sup>= comparación de medias en las columnas por Waller-Duncan,  $p \leq 0.05$ .

### Características microscópicas de las yemas apicales determinadas irreversiblemente a floración

Las yemas colectadas de 'Méndez' para ambos flujos vegetativos macroscópicamente lucieron más desarrolladas que las de 'Hass' descritas para California (Salazar *et al.*, 1998) y Nayarit (Salazar *et al.*, 2007), de tal forma que parecían E-4. Sin embargo, microscópicamente se confirmó que correspondían a E-3, cuyas características son: meristemo del eje primario en forma convexa, presencia de meristemos de ejes secundarios de la inflorescencia y de las escamas que cubren la yema (Figura 1). De acuerdo a esto, las yemas clasificadas inicialmente como E-4 fueron reclasificadas a E-3. El estado de desarrollo E-3 ya ha sido asociado con la DIF en el aguacate 'Hass' (Salazar *et al.*, 1999).

### Efecto de la temperatura ambiental sobre la DIF

De todas las temperaturas base evaluadas ( $\leq 8^{\circ}\text{C}$  hasta  $\leq 20^{\circ}\text{C}$ ), las temperaturas  $\leq 18$  e  $\leq 20^{\circ}\text{C}$  fueron las que mejor se asociaron con la DIF de yemas en brotes de los flujos vegetativos de verano e invierno, respectivamente (Cuadro 7). El resultado encontrado para yemas del flujo de invierno ( $\leq 20^{\circ}\text{C}$ ) difiere de lo reportado por Salazar *et al.* (1999) en donde los árboles jóvenes de 'Hass' mantenidos a temperatura constante de  $25/20^{\circ}\text{C}$  (día/noche) en cámaras de crecimiento no florecieron. Las temperaturas ambientales  $25/20^{\circ}\text{C}$  no ocurren de forma constante a nivel comercial ya que hay fluctuaciones en ambos sentidos que permiten el cultivo exitoso de 'Hass' en diferentes regiones productoras (Salazar *et al.*, 2013).



**Figura 1. Sección media longitudinal de yema apical de aguacate 'Méndez' en E-3. es= escama de la yema; p= meristemo del eje primario de la inflorescencia; y s= meristemo del eje secundario de la inflorescencia.**

**Figure 1. Mean longitudinal section of apical bud of 'Méndez' avocado in E-3. es= yolk scale; p= meristem of the primary axis of the inflorescence; and s= meristem of the secondary axis of the inflorescence.**

### Effect of the ambient temperature on the DIF

From all evaluated basal temperatures ( $\leq 8^{\circ}\text{ C}$  to  $\leq 20^{\circ}\text{ C}$ ), temperatures  $\leq 18$  and  $\leq 20^{\circ}\text{ C}$  were the best associated with DIF buds in outbreaks of summer and winter

Como la DIF de la población de brotes muestrados en los árboles experimentales se alcanzó cuando las yemas estaban entre E-3 y E-4, con fines estadísticos se consideró E-4 como el estado donde la DIF había ocurrido. En brotes del flujo de invierno desde E-1 (febrero) hasta E-4 (26 junio) se acumularon (promedio de dos años) 1480 HF con temperaturas  $\leq 20^{\circ}\text{C}$ . Para brotes de verano desde E-1 (agosto) a E-4 (26 noviembre) se acumularon (promedio de dos años) 1 266 HF con temperaturas  $\leq 18^{\circ}\text{C}$ .

**Cuadro 7. Coeficientes matemáticos y criterios de selección los mejores modelos de predicción de la DIF, basados en temperatura, en brotes de invierno 2014 y 2015 (que florecieron en verano 2014 y 2015) y verano 2014 y 2015 (que florecieron en invierno 2015 y 2016) en aguacate ‘Méndez’.**

**Table 7. Mathematical coefficients and selection criteria the best predictive models of DIF, based on temperature, on winter sprout 2014 and 2015 (which flourished in summer 2014 and 2015) and summer 2014 and 2015 (which flourished in winter 2015 and 2016) in avocado ‘Méndez’.**

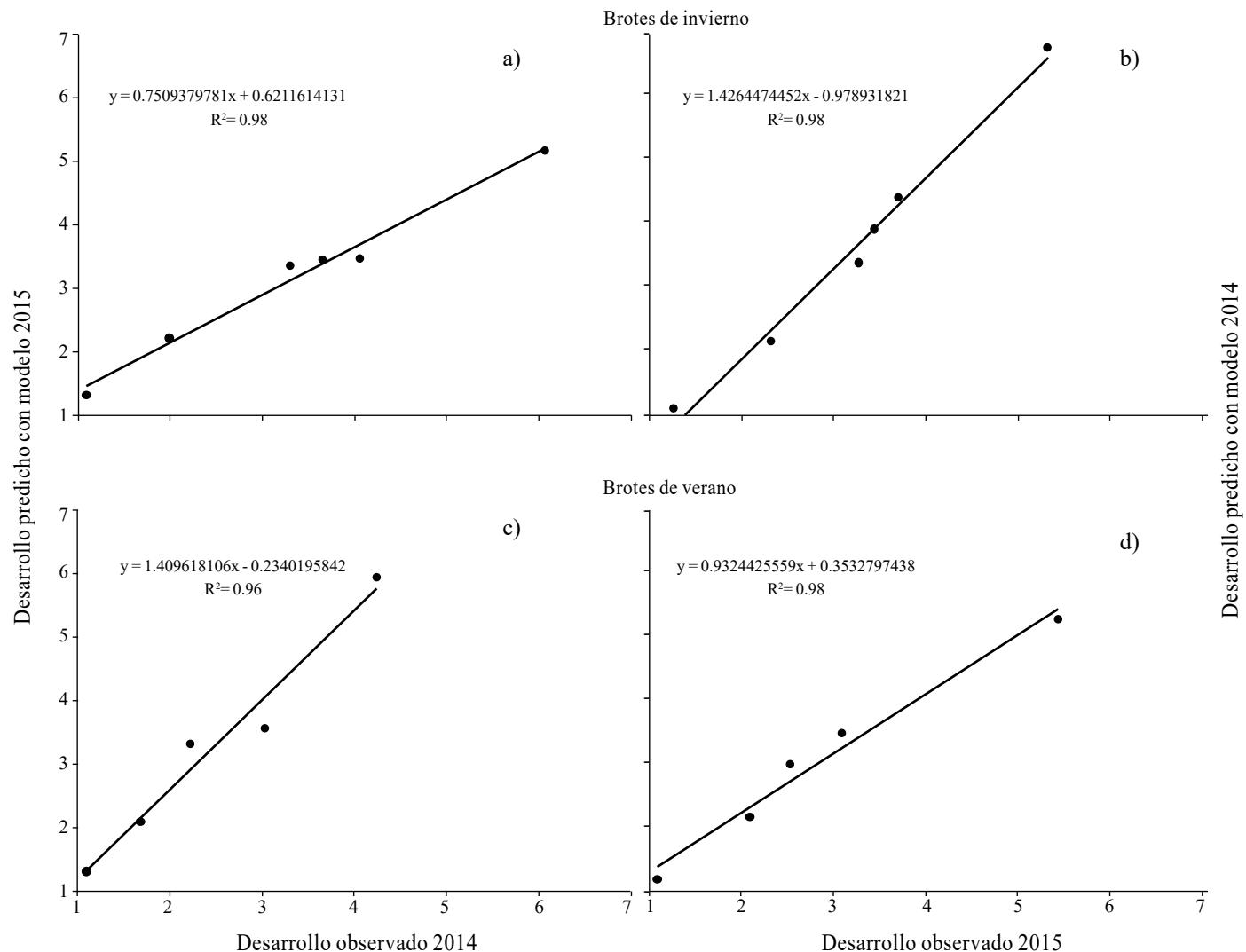
Temperaturas (HFA)	Parámetros						Criterios			
	B <sub>0</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>4</sub>	B <sub>5</sub>	B <sub>6</sub>	R <sup>2</sup>	Cp	CME
Brotes de invierno 2014										
$\leq 19^{\circ}\text{C}$	1.1	-9.06E-04	1.22E-05	-1.25E-08	3.84E-12			0.99	3.99	0.01
$\leq 20^{\circ}\text{C}$	1.1	-5.16E-04	9.85E-06	-9.47E-09	2.70E-12			0.99	4.02	0.03
$\leq 21^{\circ}\text{C}$	1.1	-0.0002956	0.00000606		-7.34E-12	4.95E-15	-9.42E-19	0.99	4.03	0.03
Brotes de invierno 2015										
$\leq 19^{\circ}\text{C}$	1.31	6.55E-04		2.11E-08	-3.86E-11	2.40E-14	-4.93E-18	0.96	3.95	0.11
$\leq 20^{\circ}\text{C}$	1.3	-8.95E-04	8.82E-06		-1.43E-11	1.08E-14	-2.29E-18	0.97	4.17	0.08
$\leq 21^{\circ}\text{C}$	1.30451	-0.00054172	0.00000689		-9.49E-12	6.56E-15	-1.27E-18	0.98	4.1	0.05
Brotes de verano 2014										
$\leq 17^{\circ}\text{C}$	1.04489	0.02457	-0.00011901	1.76E-07		-1.38E-13	6.08E-17	0.7	6	1.58
$\leq 18^{\circ}\text{C}$	1.18247	0.00191		2.92E-08	-7.60E-11	6.37E-14	-1.72E-17	0.84	4.02	0.69
$\leq 19^{\circ}\text{C}$	1.11505	0.0006	0.00001031	-1.42E-08		8.08E-15	-2.97E-18	0.9	4.09	0.41
Brotes de verano 2015										
$\leq 17^{\circ}\text{C}$	1.29	7.32E-03	-1.49E-05		3.80E-11	-3.93E-14	1.16E-17	0.87	4.31	1.05
$\leq 18^{\circ}\text{C}$	1.3	5.70E-04		2.92E-08	-5.96E-11	4.16E-14	-9.63E-18	0.76	4.08	1.6
$\leq 19^{\circ}\text{C}$	1.22	3.36E-03			-4.95E-12	4.86E-15	-1.23E-18	0.85	4.05	0.99

**Cuadro 8. Coeficientes matemáticos de los mejores modelos de predicción de la DIF para brotes de invierno o verano en aguacate ‘Méndez’ empleando el conjunto de datos de 2014 y 2015.**

**Table 8. Mathematical coefficients of the best prediction models of DIF for winter or summer outbreaks in ‘Méndez’ avocado using the data set for 2014 and 2015.**

Temperaturas (HFA)	Brotes de invierno						Criterios			
	B <sub>0</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>4</sub>	B <sub>5</sub>	B <sub>6</sub>	R <sup>2</sup>	Cp	CME
$\leq 20^{\circ}\text{C}$	1.20360	0.0007		1.68E-08	-2.83E-11	1.63E-14	-3.12E-18	0.962	5.23	0.102
Brotes de verano										
$\leq 18^{\circ}\text{C}$	1.10634	0.0001	0.00001376	-1.83E-08		9.71E-15	-3.43E-18	0.851	4.14	0.516

vegetative flows, respectively (Table 7). The result found for winter flow buds ( $\leq 20^{\circ}\text{C}$ ) differs from that reported by Salazar *et al.* (1999) where young ‘Hass’ trees kept at constant temperature of 25/20 °C (day/night) in growth chambers did not flower. Environmental temperatures of 25/20 °C do not occur commercially as there are fluctuations in both directions that allow the successful cultivation of Hass in different producing regions (Salazar *et al.*, 2013).



**Figura 2.** Ajuste de valores entre el estado de desarrollo floral observado en el año 1 (2014) vs. el desarrollo floral predicho obtenido para el año 2 (2015) y viceversa en brotes del flujo de invierno con los modelos de HFA≤20 (a y b) y de verano≤18°C (c y d).  
**Figure 2.** Adjustment of values between the state of floral development observed in year 1 (2014) vs. the predicted floral development obtained for year 2 (2015) and vice versa in winter flow outbreaks with HFA models≤20 (a and b) and summer≤18°C (c and d).

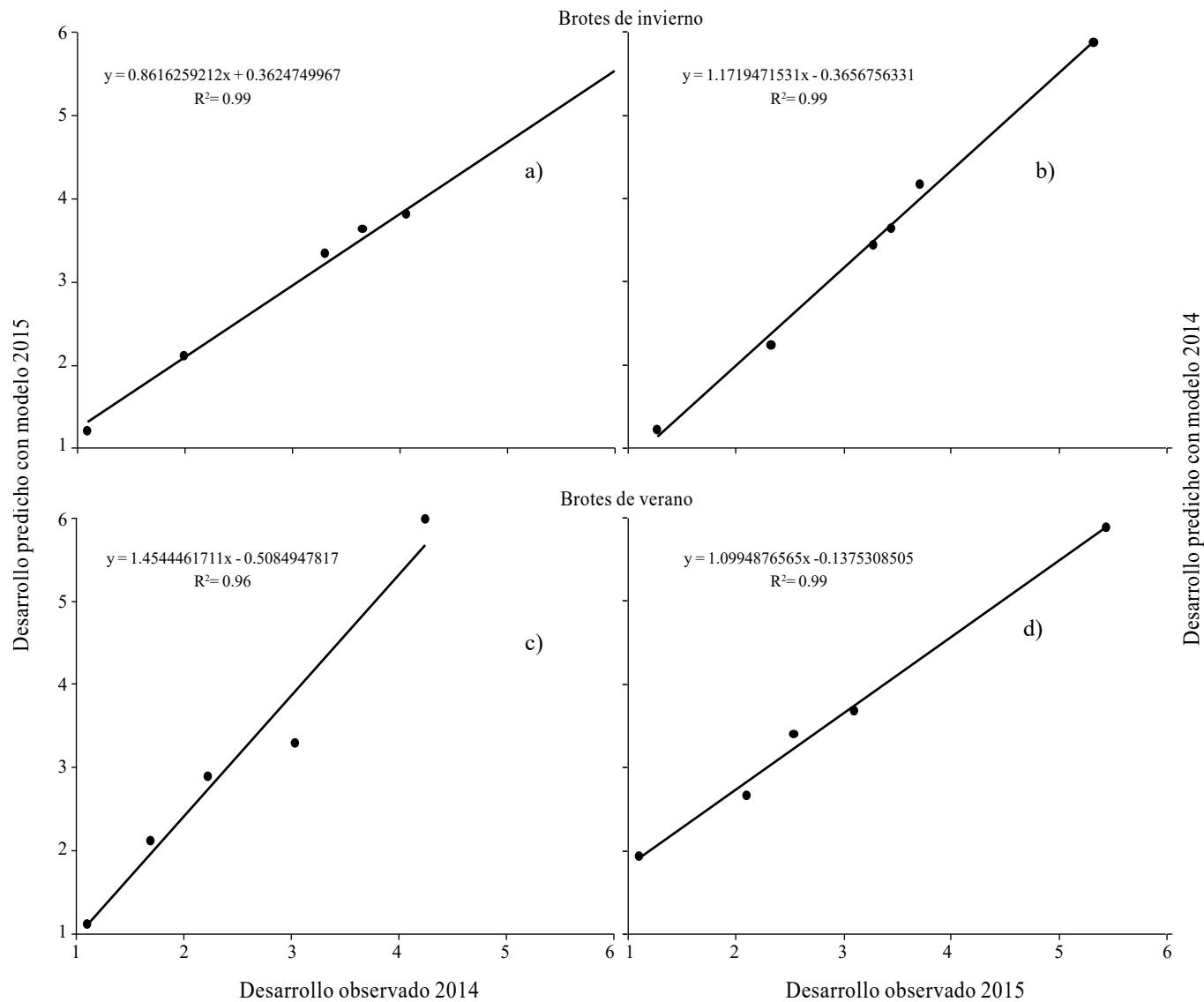
La diferencia en la temperatura crítica y los requerimientos de HF para alcanzar la DIF entre los brotes de ambos flujos vegetativos puede deberse a que los brotes de invierno desarrollaron bajo las temperaturas cálidas de primavera; lo contrario ocurrió para brotes de verano, los que experimentaron el descenso de la temperatura ambiental típica del verano- otoño en la región donde se realizó el estudio. Los resultados confirman que el descenso de las temperaturas, más que un valor específico de la misma, es la que estimuló la transición de las yemas hacia la fase reproductiva a expensas del crecimiento vegetativo.

As the DIF of the population of sprout sampled in the experimental trees was reached when the buds were between E-3 and E-4, for statistical purposes E-4 was considered as the state where DIF had occurred. In winter flow outbreaks from E-1 (February) to E-4 (26 June) 1480 HF accumulated (average of two years) with temperatures ≤20 °C. For summer outbreaks from E-1 (August) to E-4 (26 November) accumulated (average of two years) 1 266 HF with temperatures ≤18 °C.

The difference in critical temperature and HF requirements to reach DIF between outbreaks of both vegetative flows may be due to the fact that winter buds developed under

En un estudio en cámaras de crecimiento se sometieron árboles jóvenes de aguacate ‘Hass’ a cuatro semanas a 10/7 °C (día/noche) más cuatro semanas a 20/15 °C. La DIF que resultó en intensa floración se alcanzó con 1344 HF (Salazar *et al.*, 1999). Estas HF son muy cercanas a lo registrado en condiciones de campo en el presente estudio, 1 480 HF y 1 239.5 HF en brotes de invierno y verano, respectivamente.

warm spring temperatures; the opposite occurred for summer outbreaks, which experienced a drop in typical summer-autumn temperature in the region where the study was conducted. The results confirm that the decrease in temperatures, rather than a specific value of the same, is what stimulated the transition of buds to the reproductive phase at the expense of vegetative growth.



**Figura 3. Ajuste de valores entre el estado de desarrollo floral observado en el año 1 (2014) y año 2 (2015) vs. el desarrollo floral predicho obtenido con el conjunto de datos de los años 2014-2015 en brotes del flujo de invierno con los modelos de HFA  $\leq 20$  (a y b) y de verano  $\leq 18$  °C (c y d).**

**Figure 3. Adjustment of values between the state of floral development observed in year 1 (2014) and year 2 (2015), the predicted floral development obtained with the data set from the years 2014-2015 in winter flow outbreaks with HFA models  $\leq 20$  (a and b) and summer  $\leq 18$  °C (c and d).**

## Verificación de la no diferencia entre datos del año 1 (2014) vs. año 2 (2015)

Para brotes de invierno el modelo HFA  $\leq 20$  °C del año 2 mostró una alta capacidad de predicción de la DIF para el año 1 ( $R^2= 0.98$ ; Figura 2A). Lo mismo sucedió al usar el modelo del año 1 vs. el año 2 ( $R^2= 0.98$ ; Figura 2B). Esta prueba también fue aplicada en brotes de verano con el modelo HFA  $\leq 18$  °C y resultó en una  $R^2= 0.96$  (año 2 vs. año 1) y  $R^2= 0.98$  (año 2 vs. año 1) (Figuras 2C y 2D).

## Nuevos modelos generados utilizando datos de dos años

Ante la no diferencia entre años de la capacidad predictiva de los modelos para brotes de los flujos de invierno o verano se fusionaron los datos de los dos años y se obtuvo un nuevo modelo de predicción para cada tipo de brote (Cuadro 8). Los modelos únicos para brotes de invierno HFA  $\leq 20$  °C y verano HFA  $\leq 18$  °C fueron probados contra los datos de desarrollo floral reales obtenidos en 2014-2015 y su  $R^2$  fue superior a 0.98 (Figura 3)

Estos nuevos modelos generados podrán ser empleados para desarrollar una aplicación en Internet que muestre cuando los brotes de cada flujo vegetativo alcanzarán la DIF y programar de una manera segura algunas actividades en el huerto que usualmente inhiben o disminuyen la intensidad de floración, como la poda, la fertilización nitrogenada y de la aplicación de biorreguladores vegetales, entre otras, las cuales han mostrado ser efectivas para controlar el tamaño del árbol, para reducir la caída de fruto, para acelerar la madurez fisiológica e incrementar la producción y tamaño de fruto.

## Conclusiones

En esta investigación se confirmó que el descenso de las temperaturas, más que un valor específico de la misma, es lo que estimula la transición de las yemas hacia la fase reproductiva. Las diferencias en las épocas en que ocurre la determinación hacia la floración en los brotes originados por distintos flujos vegetativos son debidas a las variaciones estacionales de la temperatura. También, se demostró que en los aguacates 'Hass' y 'Méndez' las yemas determinadas irreversiblemente hacia floración presentan un estado de desarrollo anatómico similar, independiente de las diferencias geográficas y climáticas.

In a growth chamber study young 'Hass' avocado trees were subjected to four weeks at 10/7 °C (day/night) plus four weeks at 20/15 °C. The DIF that resulted in intense flowering was reached with 1344 HF (Salazar *et al.*, 1999). These HF are very close to what was recorded in field conditions in the present study, 1 480 HF and 1 239.5 HF in winter and summer sprout, respectively.

## Verification of the non-difference between data from year 1 (2014) vs. year 2 (2015)

For winter outbreaks, the HFA model  $\leq 20$  °C of year 2 showed a high predictive capacity of DIF for year 1 ( $R^2= 0.98$ , Figure 2A). The same thing happened when using the model year 1 vs year 2 ( $R^2= 0.98$ , Figure 2B). This test was also applied in summer sprout with the HFA model  $\leq 18$  °C and resulted in  $R^2= 0.96$  (year 2 vs. year 1) and  $R^2= 0.98$  (year 2 vs. year 1) (Figures 2C and 2D).

## New models generated using data from two years

Given the non-difference between years of the predictive capacity of the models for outbreaks of winter or summer flows, data from the two years were fused and a new prediction model was obtained for each type of outbreak (Table 8). The unique models for winter outbreaks HFA  $\leq 20$  °C and summer HFA  $\leq 18$  °C were tested against the actual floral development data obtained in 2014 and 2015 and their  $R^2$  was higher than 0.98 (Figure 3).

These models can be used to develop an application on the Internet that shows when the outbreaks of each vegetative flow will reach the DIF and safely program some activities in the orchard that usually inhibit or decrease the intensity of flowering, such as pruning, nitrogen fertilization and application of vegetable bioregulators, among others, which have shown to be effective to control the size of the tree, to reduce fruit drop, to accelerate physiological maturity and to increase fruit production and size.

## Conclusions

In this research it was confirmed that the decrease in temperatures, rather than a specific value of the same, is what stimulates the transition from the buds to the reproductive phase. The differences in the seasons in which the determination towards the flowering occurs in

## Agradecimientos

Los autores agradecen el financiamiento parcial del INIFAPy de Agro González SPR de RL en Ciudad Guzmán, Jalisco, así como del CONACYT, para la estancia posdoctoral de Martha Elva Ibarra-Estrada en el posgrado de Ciencias Biológicas Agropecuarias- Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit.

## Literatura citada

- Bernier, G.; Kinet, J. M. and Sachs, R. M. 1981. The physiology of flowering. CRC Press, Boca Raton, Fla. 2:232-257.
- Bernier, G. 1988. The control of floral evocation and morphogenesis. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 39:75-219.
- Dixon, J.; Smith, D. B.; Greenwood, A. C. and Elmsly, T. A. 2006. Putative timing of irreversible commitment to flowering of 'Hass' avocado trees in the western bay of plenty. New Zealand Avocado Growers' Association Annual Research Report. 6:13-20.
- Draper, N. R. and Smith, H. 1981. Applied regression analysis. Ed. John Wiley & Sons, Inc. Second Edition. New York, USA. 709 p.
- Erner, Y. 1988. Effects of girdling on the differentiation of inflorescence types and fruit set in Shamouti orange trees. Israel J. Bot. 37(2-4):173-80.
- García, A. E. 1988. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). 'Climas' (clasificación de Köppen, modificado por García). Escala 1:1000 000 México. Shapefile. [http://www.conabio.gob.mx/informacion/metadata/gis/clima1mgw.xml?\\_httplib=cache=yes&\\_xsl=/db/metadata/xsl/fcdc\\_html.xsl&\\_indent=no](http://www.conabio.gob.mx/informacion/metadata/gis/clima1mgw.xml?_httplib=cache=yes&_xsl=/db/metadata/xsl/fcdc_html.xsl&_indent=no).
- Pérez, B. M. H.; Vázquez, V. V. y Salazar, G. S. 2006. Defoliación de brotes apicales y su efecto en la diferenciación floral del mango 'Tommy Atkins'. Rev. Fitotec. Mex. 29(4):313-319.
- Pin, P. A. and Nilsson, O. 2012. The multifaceted roles of flowering locus T in plant development. United Kingdom. Plant Cell Environ. 35(10):1742-1755.
- Rocha, A. J. L.; Salazar, G. S. y Bárcenas, O. A. E. 2010. Determinación irreversible a la floración del aguacate 'Hass' en Michoacán. México. Rev. Mex. Cienc. Agric. 1(4):469-478.

the sprout originated by different vegetative flows are due to the seasonal variations of the temperature. Also, it was shown that in the 'Hass' and 'Méndez' avocados the buds irreversibly determined towards flowering present a similar anatomical development state, independent of geographic and climatic differences.

*End of the English version*



- Ruzin, S. E. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford University Press. 322 p.
- Salazar, G. S.; Lord, E. M. and Lovatt, C. J. 1998. Inflorescence and flower development of the 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.) during "on" and "off" crop years. USA. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 123(4):537-544.
- Salazar, G. S.; Lord, E. M. and Lovatt, C. J. 1999. Inflorescence development of the 'Hass' avocado: commitment to flowering. USA. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 124(5):478-482.
- Salazar, G. S.; Cossio, V. L. E.; Lovatt, C. J.; González, D. I. J. L. and Pérez, B. M. H. 2006. Crop load affects vegetative growth flushes and shoot age influences irreversible commitment to flowering of 'Hass' avocado. USA. HortSci. 41(7):1541-1546.
- Salazar, G. S.; Cossio, V. L. E.; González, D. I. J. L. y Lovatt, C. J. 2007. Desarrollo floral del aguacate "Hass" en clima semiárido. Parte I. Influencia de la carga del fruto y edad de los brotes. México. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 13(1): 87-92.
- Salazar, G. S.; Cossio, V. L. E. y González, D. I. J. L. 2008. Desarrollo floral de los aguacates 'Choquette' y 'Booth-8' en clima cálido. Parte II. México. Agric. Téc. Méx. 34(1):51-56.
- Salazar, G. S.; Lord, E. M. and Lovatt, C. J. 2013. Reproductive biology. In: avocado: botany, production and uses. Schaffer, B.; Wolstenholme, N. and Whiley, A. W. (Eds.). 2<sup>nd</sup>. Ed. CAB International. Oxfordshire, UK. 118-167 pp.
- Salazar, G. S.; Ibarra, E. M. E. and González, V. J. 2015. Phenology of the 'Méndez' avocado in Southern Jalisco, Mexico. In: VIII World Avocado Congress. Lima, Perú. 13-18 septiembre.
- Statistical Analysis System (SAS Institute). 2011. User's guide: Mathematical Programming. Version 9.3. Cary, N.C. USA.
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. 1984. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. 2<sup>nd</sup> Ed. McGraw Hill Publisher. 234-235 pp.