

ALMACENAMIENTO DE POLEN DE GUANÁBANO (*ANNONA MURICATA L.*)

Palabras clave: Polinización, germinación de polen, guanábano.
Key words: Pollination, pollen germination, guanábano.

Luz Fabiola Cárdenas Torres¹

RESUMEN

Ensayos de polinización artificial requieren del conocimiento de la germinabilidad de los granos de polen, que varía considerando el grado de madurez del mismo y los factores del medio, como la temperatura y la humedad relativa. En este proyecto se realizaron pruebas con diferentes niveles de los factores mencionados anteriormente, para el guanábano (*Annona muricata L.*), con el fin de encontrar el mejor medio para almacenamiento. De los ambientes analizados el mejor fue el de refrigeración a 14.3° C y 91,6% de humedad relativa, seguido por el cuarto frío con 22° C y 83,6 % de humedad relativa, y el de menor porcentaje de granos de polen germinados fue el de condiciones ambientales con temperatura de 28° C y 86 % de humedad relativa. A partir de esto, se concluye, que el porcentaje de germinación de los granos de polen disminuye con el aumento de la temperatura y el descenso de la humedad relativa, como resultado de la deshidratación de los granos de polen y consecuente pérdida de viabilidad. El estado de apertura floral que presenta mayor número de granos germinados es el VI, con cero horas de almacenamiento, presentando pérdida de germinabilidad con el paso del tiempo de almacenamiento.

ABSTRACT

Trials on artificial pollination require knowledge about pollen grains germination, that depends on

pollen maturity and also on environmental factors such as temperature and relative moist. In this project those factors were evaluated on the Guanabano (*Annona muricata L.*) in order to find the best conditions for storing. The best conditions were found at 14.3 (C temperature and 91.6% relative moist, followed by cold room conditions at 22 (C temperature and 83.6% relative moist. The worse conditions were at room temperature, that is 28 (C temperature and 86% relative moist. It is concluded that pollen grains germination decrease at higher temperatures and at lower relative moist as a result of pollen grains dehydration and loss of viability. The floral aperture stage that showed the highest number of germinated pollen grains was VI, that is 0 hours of storing, losing germination power through storing time.

INTRODUCCION

Las bajas tasas de producción del guanábano (*Annona muricata L.*) presentadas en la región del Guamo (Tolima) han incentivado las investigaciones, debido a que se requiere detectar las causas del problema y su solución. Esta región presenta períodos bastante secos; en estas condiciones se observan rangos bajos o casi nulos de flores fecundadas. Por esta causa se requiere realizar polinización de tipo artificial, la que aumenta en gran proporción el número de frutos formados. Sin embargo, la polinización de tipo artificial requiere de factores ambientales como alta hume-

¹ Docente Universidad Distrital. Facultad del Medio Ambiente y Recursos Naturales. Proyecto Curricular de Ingeniería Forestal.

dad relativa y una temperatura adecuada, que varía en dependencia de la especie. La condición seca de la zona provoca un desecamiento rápido del polen y, por tanto, la pérdida acelerada de la viabilidad. De otro lado, resulta dispendioso realizar la recolección del polen en días lluviosos, considerando que se encuentra humedecido y pierde viabilidad.

La presente investigación busca establecer el mejor medio para almacenar el polen del guanábano, buscando las condiciones ideales de temperatura y humedad relativa; además de conocer el grado óptimo de madurez del grano de polen.

ANTECEDENTES

El cultivo del guanábano (*Annona muricata* L.) se desarrolló en forma rústica, la mayor parte de las explotaciones actuales son tecnificadas, aunque son pocas las que presentan producciones satisfactorias. Se han registrado cultivos en Antioquia, Boyacá, Caldas, Cundinamarca, Huila, Santander, Tolima, Valle del Cauca, Risaralda y Quindío. Existen explotaciones por debajo de los 1.150 msnm, con rangos de humedad relativa entre el 60% y el 80%, y de temperatura entre 25° C y 28° C (Escobar, 1987).

Los granos de polen del guanábano se encuentran agrupados en tétradas, son pegajosos, de forma ovoide y de color amarillo transparente (Escobar, 1987). Estos pueden ser afectados positiva o negativamente por la temperatura y/o la humedad relativa; alterando el desarrollo de la maduración del polen. Las bajas o altas temperaturas en el proceso de desarrollo pueden reducir la cantidad y respuesta de la germinación de los granos maduros. El desarrollo del polen puede ser alterado por las bajas temperaturas; particularmente los estambres y el polen son más susceptibles a la temperatura que cualquier otra parte de la flor durante su desarrollo. También pueden influir en la viabilidad del polen: el tiempo de recolección, la aplicación a las plantas de químicos para el control de insectos y algunos gases industriales (Linskens, 1974).

La humedad juega un papel importante en el proceso de polinización, ya que promueve la germinación del grano de polen y el crecimiento del tubo polínico (Faegri, 1979). En *Clanthus formosus*, por ejemplo, no se pierde la capacidad de germinación del grano de polen en un cuarto con bajas temperaturas si éste se encuentra hidratado (Hughes y Lee, 1991).

De otro lado, el decrecimiento de la viabilidad del polen en almacenamiento se debe probablemente a la actividad enzimática, que se reduce junto con los sustratos requeridos para respiración. La forma por la cual el polen retiene su viabilidad está vinculada con las tasas de respiración intracelular, que disminuyen con la edad (Linskens, 1974).

La deshidratación del polen daña los componentes de la célula masculina. Las fluctuaciones de la humedad relativa en almacenamiento generan disminución en la viabilidad del polen debido a la deshidratación de las enzimas, que reducen su actividad. Otras causas del decrecimiento de la viabilidad son: los cambios endógenos en las hormonas de crecimiento, la remoción de la exina, que origina una disminución en la fertilidad, y el efecto de virus y bacterias (Linskens, 1974).

En el guanábano se presentan seis estados de apertura floral, los de pertinencia para este trabajo son: estado de apertura floral IV, en el que ocurre la máxima separación de los pétalos exteriores, lo que sucede acompañado de un aumento de líquido viscoso en el estigma, las anteras se tornan ligeramente oscuras, entre las 5am del quinto día de floración y las 4pm del sexto día. El estado V se inicia generalmente con el desprendimiento del primer pétalo exterior hasta quedar los estigmas descubiertos, las anteras se tornan oscuras, los estigmas demuestran alta secreción inicial para luego iniciarse un secamiento rápido, entre las 4 y 7 am del sexto día de floración. Para el estado VI se evidencia derrame del polen, que procede después de la caída de los pétalos exteriores e interiores que aún persisten, el derrame, ocasionalmente, se produce sin ocurrir la caída de los pétalos, entre las 7 y las 9 am del sexto día (Guzmán, 1991).

De acuerdo con un estudio realizado por Guzmán (1991), en el cual se polinizaron flores de guanábano con polen almacenado a diferentes horas, se encontró que: para flores en estado de apertura floral IV, a las 24 horas de almacenamiento, un 46,1% de flores polinizadas y a las 36 horas 20,0%. Para el polen de flores en estado V con cero horas de almacenamiento, 63,1% de flores polinizadas. En el Guamo (Tolima), se evaluó la germinación de los granos de polen, obtenido de flores en estado de apertura floral IV, se presentó a las 0 horas de almacenamiento 80% de germinación; a las 24 horas 94%; a las 48 horas, 62%, y a las 72 horas, 24% de granos germinados (Guzmán y Ariza, 1995).

Uno de los métodos usados para la evaluación del polen es el de cultivo, en el que se considera el porcentaje de germinación y el tamaño del tubo polínico. Se establece que el grano ha germinado cuando el largo del tubo es mayor que el diámetro del grano de polen. Para cada campo observado en el microscopio, se registra el número total de granos y el número de granos germinados (Shivanna y Rangaswamy, 1992).

METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizó en el municipio del Guamo (Tolima) localizado a una altura de 450 msnm.

El polen tomado de las flores en estado de apertura floral IV se extrajo de las flores recolectadas en campo; el de las flores en estado de apertura floral VI, y después de este, fue recolectado de anteras dehiscentes. Fue separado en el laboratorio, colocado en bolsas de nylon brisa y llevado a los medios analizados.

Los tratamientos considerados para el presente trabajo son: la hora de recolección del polen en campo (9 am, 4 pm), tiempo de almacenamiento del polen (0, 24, 48 horas), medios utilizados para almacenamiento (ambiente, nevera, cuarto frío), estado de apertura de las flores de las que se tomó el polen (IV, VI y 7 horas después del estado VI). Los estados fueron seleccionados considerando que los granos estuvieran maduros y se utilizaran a

nivel comercial para polinización manual.

Los granos de polen se germinaron *in vitro* en líquido estigmático. Para el estudio del polen, se utilizó un cuarto con humedad relativa de 82,3% y temperatura promedio de 28° C; se utilizó una nevera con un promedio humedad relativa de 91,6% y temperatura de 14,3 °C, y un cuarto frío con un promedio de humedad relativa de 83,6% y 22,0° C de temperatura. Se empleó un higrómetro y un termómetro de mercurio para captar la humedad relativa y la temperatura.

Inicialmente, fue necesario establecer el momento en el que se detenía el proceso germinativo de los granos de polen, para lo cual se realizó un ensayo y se estableció que dejaban de germinar a la hora y cuarenta y cinco minutos.

Se analizaron tres flores por cada estado de apertura floral, con diez observaciones por flor. Cada flor representa una repetición. Se utilizaron las mismas flores durante todo el ensayo, con el fin de observar el comportamiento de los granos de polen, bajo las condiciones de los tratamientos.

El análisis estadístico se realizó usando un diseño completamente al azar, en un factorial $2 \times 3 \times 3 \times 2$. Por medio de un análisis de varianza, se buscó establecer las diferencias entre los tratamientos.

RESULTADOS

Los porcentajes de germinación de los granos de polen disminuyen a medida que pasa el tiempo en almacenamiento con diferencias altamente significativas; sin embargo, el polen tomado de las flores en estado de apertura floral IV, en las horas de la tarde, muestra su mayor porcentaje de germinación a las 24 horas de almacenamiento (7 horas después del estado VI) Tabla 1.

El polen de flores en estado de apertura floral IV, tomado en las horas de la mañana (9 am), presenta mayor germinación a las 0 horas de almacenamiento, esta germinación va disminuyendo con el tiempo.

Para el polen de flores tomadas en estado de apertura floral IV, recogido en la tarde (4 pm), el por-

Tabla 1. Promedios de porcentajes de germinación de granos de polen en almacenamiento.

Hora de recolección del polen (flores) en campo	Tiempo de almacenamiento (horas)	Tipo de almacenamiento	Promedio de porcentaje de germinación estado de apertura floral IV	Promedio de porcentaje de germinación estado de apertura floral VI
9 am	00	Ambiente	32.93	59.82
	00	Nevera	6.34	57.55
	00	Cuarto frío	15.34	52.80
9 am	24	Ambiente	7.12	0.05
	24	Nevera	6.53	21.19
	24	Cuarto frío	8.44	4.45
9 am	48	Ambiente	0.27	0.00
	48	Nevera	6.45	0.27
	48	Cuarto frío	0.00	0.27
4 pm	00	Ambiente	28.44	3.70
	00	Nevera	39.53	0.00
	00	Cuarto frío	35.10	2.35
4 pm	24	Ambiente	23.45	0.05
	24	Nevera	59.89	0.17
	24	Cuarto frío	41.53	0.00
4 pm	48	Ambiente	0.00	0.00
	48	Nevera	0.27	0.00
	48	Cuarto frío	0.00	0.00

centaje de germinación aumenta a medida que pasa el tiempo; excepto para el polen bajo condiciones ambientales, para el cual disminuye. A las 48 horas de almacenamiento, la germinación es muy baja o nula. Para este caso el porcentaje de granos germinados es mayor que el tomado en las horas de la mañana.

El polen procedente de flores en estado de apertura floral VI, recolectado a las 9 am, presenta sus mejores porcentajes de germinación a las 0 horas de almacenamiento, disminuyendo a medida que pasa el tiempo. Tabla 1.

Así mismo, el polen extraído de flores de 7 horas después del estado de apertura floral VI, en la tarde (4 PM), presenta una disminución en el porcentaje de germinación con el paso del tiempo. Los porcentajes de germinación de este polen tomado en las horas de la tarde son muy inferiores comparados con el recolectado en las horas de la mañana en estado VI.

Luego de 48 horas de almacenamiento, la potencialidad para germinar de los granos de polen se ha perdido en gran proporción.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La germinabilidad de los granos de polen se pierde con el tiempo, luego de que éstos alcanzan su madurez. Los granos de polen tomados de flores en estado de apertura floral IV, recogidos en la tarde, continúan su proceso de maduración cuando son almacenados en la nevera, por ello se obtienen altos valores de germinación, a las 24 horas de almacenamiento (7 horas después del estado VI). Este polen, almacenado bajo condiciones ambientales, disminuye su porcentaje de germinación con el tiempo.

Los granos procedentes del estado de apertura floral VI recolectados en las horas de la mañana presentan mayores porcentajes de germinación a las

0 horas de almacenamiento, posiblemente el polen en este estado de apertura floral se encuentra maduro, preparado para hidratarse y emitir el tubo polínico, como lo muestran los altos niveles de porcentaje de germinación.

Los granos de polen de flores en estado de apertura floral IV, recogidos en las horas de la mañana, pueden haber presentado algún grado de inmadurez y por tanto sus valores de porcentaje de germinación son bajos, y disminuyen a medida que pasa el tiempo.

El polen recolectado de flores 7 horas después del estado de apertura floral VI, en las horas de la tarde, presenta bajos porcentajes de germinación. Esto como consecuencia de la desecación de los granos, por el ascenso de la temperatura durante el día y el proceso de envejecimiento.

El almacenamiento del polen bajo condiciones ambientales, con altos valores de temperatura y bajos de humedad relativa para este ensayo, genera una disminución en los porcentajes de germinación de los granos y la aceleración del envejecimiento del mismo.

CONCLUSIONES

- Para la realización de la polinización artificial, el polen del estado de apertura floral VI (caída de pétalos exteriores e interiores y derrame del polen, Guzmán 1991), tomado en las horas de la mañana, presenta mayores porcentajes de germinación de polen que el recolectado en otros estados.

- El almacenamiento en refrigeración resulta el medio más apropiado, con promedios de humedad relativa de 91,6% y de temperatura de 14,3 °C.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Escobar, W., 1987. Aspectos generales sobre el guanábano. Producción de frutales en el Valle del Cauca, ASIAVA, Valle del Cauca.

Faegri, K., 1979. The principles of pollination ecology, Pergamon press, Londres.

Guzman, E. y R., Ariza, 1995. Establecimiento de un sistema de polinización artificial en el cultivo de la guanábana (*Annona muricata L.*) para la zona de El Guamo (Tolima), Santafé de Bogotá, Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia.

Guzman, F. 1991. Polinización artificial del guanábano. Primer curso nacional sobre guanábana, Universidad del Tolima, Ibagué.

Hughes, H. y W., Lee, 1991. Low-temperature preservation of *Clintus formosus pollen*. HORT SCIENCE, Vol 26 (11):1411-1412.

Leon, J., 1987. Botánica de los cultivos tropicales, IICA, San José de Costa Rica.

Linskens, H., 1974. Pollen biology biochemistry management, Estados Unidos.

Shivanna, K. y N., Rangaswamy, 1992. Pollen Biology. Springer-Verlag. Alemania.