

ALMACENAMIENTO DEL POLLEN DE YUCA (*Manihot esculenta* Crantz) POR MEDIO DE LIOFILIZACION Y VARIOS REGIMENES DE HUMEDAD Y TEMPERATURA

José I. Orrego A. *

Clair H. Hershey **

COMPENDIO

ABSTRACT

Los ensayos de germinación "in vitro" del polen de yuca (*Manihot esculenta*) variedades MBRA 20 y MCOL 1413 se realizaron en medios constituidos por sacarosa, de 0 a 70 o/o y microelementos (150 ppm H_3BO_3 + 450 ppm $Ca(NO_3)_2$ + 150 ppm $MgSO_4$ + 150 ppm KNO_3). En ninguno de los medios germinó el polen. Polen de yuca var. MCOL 1413 sin secar, secado con sílica-gel 24 y 48 horas, liofilizado 4 y 8 horas se almacenó a 23.5°C, 8°C y -12°C durante 2 y 4 semanas. En los tratamientos que hubo producción de semilla, ninguna resultó viable. El método del acetocarmín al 1 o/o no fué efectivo para polen almacenado.

Trials were carried out on "in vitro" germination of pollen of cassava (*Manihot esculenta*) MBRA 20 and MCOL 1413. The media included sucrose concentrations from 0 to 70 o/o, with addition of micro-elements (150 ppm H_3BO_3 + 450 ppm $Ca(NO_3)_2$ + 150 ppm $MgSO_4$ + 150 ppm KNO_3). No germination was observed in any of the media utilized. Conservation of pollen was attempted by various treatments, including no drying (check), drying over silica-gel 24 and 48 hours, freeze-dried 4 and 8 hours, and later stored at 23.5°C, 8°C and -12°C during 2 and 4 weeks. Nevertheless for all treatments in which seed was produced after pollen storage, none of the seed was viable. The method of pollen staining by 1 o/o acetocarmine as a test of pollen viability was effective for fresh pollen, but not for stored pollen.

1. INTRODUCCION

La longevidad del polen está influida por la temperatura y humedad (Maheswari y Rangaswamy, 8), presión y composición atmosférica (Lins-kens, 7), número de núcleos al momento de la dehiscencia (Sánchez, 9), número de cromosomas (Leal, 6), nutrición mineral de las plantas duran-

* Estudiante de pre-grado, Universidad Nacional de Colombia - Palmira.

** Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT. Palmira.

te el desarrollo del polen (Linskens, 7). Algunos tipos de polen sólo requieren agua para germinar, otros necesitan sustancias químicas específicas (azúcares, ácidos orgánicos) y otros sólo lo hacen en presencia de soluciones de azúcares de concentración definida o no determinada (Linskens, 7).

Como los métodos de prolongación de la viabilidad del polen son de considerable valor en los trabajos de mejoramiento, el ensayo pretende conservar viable el de yuca, mediante liofilización y varios regimenes de humedad y temperatura, y evaluar su viabilidad por tinción y por medio de la germinación en medios artificiales.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1. Germinación "in vitro".

El polen de las variedades MBRA 20 y MCOL 1413 se sembró en medios con agar al 1.8 o/o, concentraciones bajas (0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 o/o) y altas (0, 15, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 y 70 o/o) de sacarosa, suplementados con cationes de boro (150 ppm H_3BO_3), calcio (450 ppm $Ca(NO_3)_2$), magnesio (150 ppm $MgSO_4$) y potasio (150 ppm KNO_3). Otro medio estuvo constituido por 50 estigmas macerados de la variedad MVEN 270 y 50 ml de (sacarosa al 30 o/o + agar 1.8 o/o).

2.2. Almacenamiento

Viales con anteras de la variedad MCOL 1413 se sometieron a 2 tipos de secado (cámara desecadora con silicagel con indicador azul durante 24 ó 48 horas, liofilizadora virtis 10-145 MR-BA durante 4 u 8 h), tres temperaturas (23.5, 8 y $-12^\circ C$) y 2 tiempos de almacenamiento (2 ó 4 semanas).

En total se probaron 30 tratamientos con 4 repeticiones, cada una de las cuales estaba compuesta por más de 10 flores polinizadas. El polen almacenado se probó sobre estigmas receptivos del híbrido CM 517-1. La evaluación se estimaba según el porcentaje de semillas provenientes del polen almacenado mediante la fórmula:

$$\text{o/o SPA} = \frac{\text{No. semillas/polinización (polen almacenado)}}{\text{No. semillas/polinización (polen fresco)}} \times 100$$

La viabilidad del polen también se probó mediante tinción con acetocarmin al 1 o/o.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Germinación "in vitro".

Ninguno de los medios, que se han utilizado con otras especies, indujo la germinación del polen de yuca. La ruptura de los granos de polen disminuyó al aumentar el porcentaje de sacarosa en el medio y se inhibió completamente en concentraciones mayores del 50 o/o (fig. 1). La adición de microelementos (B, Ca, Mg y K) influyó muy poco en el porcentaje de ruptura y no produjo germinación (fig. 2). La ruptura se debe a desequilibrio osmótico y es inversamente proporcional a la presión osmótica (Johri y Vasil, 4; Hall y Farmer, 3). El polen de yuca es difícil que germine "in vitro" debido a que se produce ruptura en los medios ensayados (Singh, Nair y Magoon, 10).

3.2. Almacenamiento.

3.2.1. Polinizaciones.

No hubo producción de semilla en los 4 tratamientos siguientes: "sin secar almacenado a 8°C durante 4 semanas"; "sin secar almacenado a -12°C durante 2 y 4 semanas" y "secado en desecadora durante 48 horas, almacenado al ambiente (23.5°C) durante 4 semanas".

Las semillas provenientes de polen almacenado fueron vanas o inmaduras y su tamaño promedio era 9 x 5 mm, contra 12 x 7 mm de semillas aparentemente viables provenientes de polen fresco.

De 94 flores cubiertas sin polinizar, para control de frutos partenocárpicas, se observaron 0.10 semillas inmaduras/flor. Esto indica que la partenocarpia hace desarrollar el óvulo, pero sin inducir maduración de las semillas.

El tipo de secado que mayor porcentaje de semilla produjo fue el "liofilizado 8 horas" (31.12 o/o) y el más bajo (3.41 o/o) fue el proveniente de los tratamientos "sin secar" (secado 0 horas). El tiempo de liofilización requerido para una buena conservación varía mucho, algunas especies requieren menos de una hora y otras más de 30 horas (King, 5); probablemente el polen de yuca requiere un mayor tiempo de secado o liofilizado para producir semilla viable.

La mejor temperatura de almacenamiento fue nevera (18.93 o/o de semilla), seguida por la temperatura ambiente (17.35 o/o) y por último la de congelador (13.91 o/o).

El polen almacenado durante 2 semanas tuvo un porcentaje de semilla de 18.81 o/o contra 14.64 o/o del polen almacenado 4 semanas.

Los tres mejores tratamientos fueron: "desecadora 48 horas, almacenado a 23.5°C durante 2 semanas"; "desecadora 48 horas almacenado a 8°C durante 2 semanas" y "liofilizado 8 horas almacenado a 8°C durante 2 semanas".

3.2.2. Tinción.

No hubo mucha diferencia entre los porcentajes de tinción de los tratamientos del polen almacenado, ni de éstos con polen fresco; aún tratamientos que no produjeron semillas en el ensayo de polinización (sin secar almacenados a -12°C) tuvieron una tinción normal.

En una placa de polen fresco los granos teñidos medían entre 137.5 - 162.5 u y los no teñidos entre 100- 125 u, cuando los granos de polen maduro tienen un tamaño entre 120 - 125 u (Viegas, 11).

El porcentaje de tinción promedio del polen fresco de la variedad MCOL 1413 fue 45.40 o/o y se estima que cuando es del 50 o/o es apto para fecundación (Dominguez y Ceballos, 2).

4. CONCLUSIONES

- 4.1. Medios con 0- 50 o/o de sacarosa y B, Ca, Mg y K no indujeron germinación del polen pero produjeron su ruptura, y el porcentaje fue inversamente proporcional al porcentaje de sacarosa.
- 4.2. Medios con 50 - 70 o/o de sacarosa y microelementos no indujeron germinación del polen de yuca, pero inhibieron por completo la ruptura de los granos.
- 4.3. Estigmas macerados de yuca en un medio con 30 o/o de sacarosa no indujeron germinación del polen.
- 4.4. De 30 tratamientos (combinando 3 métodos de secado, 3 temperaturas y 2 tiempos de almacenamiento), 26 produjeron semillas, pero ninguna resultó viable.
- 4.5. La tinción del polen con acetocarmín al 1 o/o no es un método confiable para probar la viabilidad del polen almacenado de yuca.

5. BIBLIOGRAFIA

1. CHANDRARATNA, M. F. and NANAYAKKARA, K.D.S.S. Studies in cassava; the production of hybrids. Trop. Agr. 194: 59-74. 1948.
2. DOMINGUEZ, C. E. y CEBALLOS, L. F. Manual de producción de yuca; clasificación taxonómica y morfología de la planta de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Cali, CIAT, 1979.
3. HALL, G. C. and FARMER, R. E. In vitro germination of black walnut pollen. Canadian Journal of Botany. 49(6): 779 - 802. 1971.
4. JOHRI, B. M. and VASIL, I. K. Physiology of pollen. The Botanical Review. 27 (3): 325 - 381. 1961.
5. KING, J. R. The freeze-drying of pollens. Economic Botany. 15(1): 91-98. 1961.
6. LEAL, F. Influencia de los métodos de almacenamiento sobre la viabilidad del polen de *Citrus* y *Poncirus*. Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela. 5(2): 5-28. 1969.
7. LINSKENS, H. F. Pollen physiology. Annual Review of Plant Physiology. 15: 255 - 263. 1964.
8. MAHESWARI, P. and N. S. RANGASWANY. Embriology-Physiology and genetics. Advances in Botanical Research. 2:221-223. 1965.
9. SANCHEZ P, A. Informe sobre una visita a Malasia. Palmira, ICA , 1973. 55 p.
10. SINGH, P. A., NAIR, R. C. and MAGOON, M. L. Palynological studies in *Manihot esculenta* Crantz and *Manihot glaziovii* Muell. Bibliography of agriculture. 34: 358-367. 1967.
11. VIEGAS, A. P. Estudios sobre a mandioca. Sao Paulo, Instituto Agronómico do Estado de Sao Paulo, 1976. 214 p.