

## EXPERIENCIAS CON MANEJO DE POLEN DE JAUL (*Alnus acuminata ssp arguta* (Schlectendal) Furlow) EN COSTA RICA Y SUS PERSPECTIVAS PARA FUTUROS PROGRAMAS SEMILLEROS

Braulio Vílchez A.\*  
Olman Murillo G.\*\*

S

Se tomaron muestras de tres árboles de un sitio de alta producción de polen y con alta regeneración natural. El período de producción de polen ocurre de noviembre a marzo o abril del año siguiente. Se encontró una relación de un fruto por cada 4 flores femeninas. El método tradicional de secar las ramas con los amentos al horno dio buenos resultados y el ámbito de temperatura óptima fue entre 22 y 27 °C. El polen fue llevado al laboratorio y se puso a germinar bajo tres tratamientos, polen hidratado, polen sin hidratar y polen en un medio compuesto de 10 mg de  $H_3BO_3$  + 10 mg  $CaCl_2$  + 20 g sacarosa + 1 g de agar. Polen almacenado por más de cinco días a 2°C no germinó. El tratamiento que más afectó la germinación fue la hidratación previa.

### INTRODUCCION

En los programas semilleros el uso de técnicas de polinización artificial significa enormes avances tanto en la cantidad de material que se produce (semilla) como en el aumento de su calidad genética.

En los programas semilleros se han detectado problemas típicos, entre los que se pueden destacar:

- En huertos semilleros un porcentaje muy bajo de los clones es el que poliniza a todos los demás, incur-

riendo todos los principios de variabilidad genética mínima en la semilla requerida para reforestación (Zobel y Talbert, 1984).

- La baja producción de polen de algunos clones, impide a buenos genotipos seleccionados participar en la producción de semilla mejorada.
- En la naturaleza es común encontrar individuos con problemas de esterilidad o en condiciones ambientales adversas (viento, lluvia) que impiden una normal polinización.

Para contrarrestar los problemas indicados se utiliza una técnica conocida como *suplementación masal* de polen en huertos semilleros, que consiste en recolectar una buena cantidad de polen de varios clones superiores (diez o más), mezclar este material y polinizar artificialmente flores femeninas de otros buenos clones (Blush, 1987). Se ha comprobado que esta técnica incrementa la producción de semilla y las ganancias genéticas (Bridgwater *et al.*, 1987).

La conservación de germoplasma de algunas especies ortodoxas se ha logrado almacenando su polen al vacío, lo que ha permitido una protección efectiva en

\* Profesor-investigador, Depto de Biología ITCR

\*\* Profesor-investigador, Depto de Ing. Forestal ITCR

*En los programas semilleros el uso de técnicas de polinización artificial significa enormes avances tanto en la cantidad de material que se produce (semilla) como en el aumento de su calidad genética.*

programas de conservación. Como se puede observar, el llegar a dominar las técnicas del manejo de polen se convierte a futuro en una herramienta de gran importancia para el desarrollo de programas de producción de semillas forestales.

Con base en estos fundamentos teóricos se vio la necesidad de investigar acerca del manejo de polen de jaúl (*Alnus acuminata*), con los siguientes objetivos:

- Determinar el período de producción de polen.
- Establecer los posibles métodos de extracción.
- Encontrar una técnica para evaluar la germinación del polen en el laboratorio.

Se consideró que, para cualquier manipulación de polen futura, es básico alcanzar primero estas metas.

## MATERIAL Y METODOS

Las muestras de polen se tomaron en Llano Grande de Cartago entre las coordenadas 9° 55'32" y 9° 56' 37" de latitud norte, 83° 53' 42" y 83° 55' 19" de longitud oeste, Costa Rica, América Central, durante los meses de setiembre a marzo de 1991 y 1992. Se tomaron muestras de tres árboles de un sitio de alta producción de polen y con alta regeneración natural; las muestras se llevaron al Laboratorio de Biología de Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR). Cada muestra fue recogida en bolsas de papel y se conservaron en refrigeración a 2°C durante la misma noche de recolección; al día siguiente, se puso el polen a germinar bajo tres tratamientos:

- 1- Polen hidratado
- 2- Polen sin hidratar
- 3- Polen sobre un medio compuesto de 10 mg H<sub>3</sub> BO<sub>3</sub> + 10 mg CaCl<sub>2</sub> + 20 g de sacarosa + 1 g de agar.

Para hidratar el polen éste se colocó en cajas de petri que se introdujeron en una cámara húmeda al 100% por un período de 5 horas.

Para el tercer tratamiento la mezcla se disolvió en 100 cm<sup>3</sup> de agua doblemente destilada, calentada hasta alcanzar la ebullición por 20 minutos. Para cada uno de los métodos se pesaron 0,625 g de Difco Bacto Agar y se colocó en un erlenmeyer, se le agregaron 125 ml de agua destilada y se tapó con algodón. Se colocó en autoclave a 1,45 lb de presión por 20 minutos. Después de la esterilización se dejó enfriar el agar por tres a cinco minutos y se chorreó sobre cajas petri de 90 mm de diámetro. La capa de agar se mantuvo lo más delgada posible (1 a 1,5 mm de hondo) evitando al máximo su exposición al aire. Después que el agar se solidificó, el polen se espolvoreó sobre las respectivas cajas de petri.

En el lote de polen de cada uno de los tres árboles muestreados, se aplicaron los tres tratamientos (medios de germinación) utilizando 10 cajas petri o repeticiones por tratamiento por árbol. Se evaluó el conteo de granos germinados durante cada hora durante las primeras 4 horas, para determinar el tiempo mínimo de germinación. Posteriormente se evaluó a las 24, 48 y 72 horas.

El muestreo de germinación se realizó en cada plato petri mediante la observación de los primeros 200 granos de polen que se ubicaran dentro del campo óptico del microscopio de luz a 100 X. Se contaron como granos germinados aquellos cuya longitud del tubo polínico excedió el ancho del grano de polen.

Para estudiar la relación de flores femeninas y la producción de frutos, se ocupó un sitio donde se estuvieran cortando árboles, por esa razón se realizó en otro lugar llamado Laguna de Zarcero, Alajuela a 1900 metros sobre el nivel del mar. Se cortaron 13 árboles fértiles y en el suelo se contaron las flores femeninas y flores masculinas en una misma rama. Para ello se numeraron las ramas desde la base hacia el ápice del árbol, muestreando de 2 a 10 ramas fértiles por árbol.

En los programas semilleros con frecuencia se presentan problemas de calidad genética. Para contrarrestarlos, se utiliza la técnica de suplementación basal de polen.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El período de producción de polen en la zona de estudio inicia en noviembre y termina en marzo o abril del siguiente año; el clímax ocurre en los meses de enero a febrero, en los cuales se encontraron los porcentajes de germinación más altos (en pruebas de laboratorio), por lo que se podría inferir que es la época óptima de polinización, pues coincide también con la antesis femenina. Hacia finales de marzo e inicios de abril los porcentajes de germinación fueron casi nulos, también para esta época hay presencia de plagas de insectos comedores de polen que invaden los amentos.

En el campo se pudo observar que la época de producción de polen es variable en distintos sitios de las Cordilleras Volcánica Central y de Talamanca, posiblemente debido a tres factores principales:

- 1- La alta diversidad genética existente en los diferentes rodales naturales.
- 2- La diversidad de microclimas que existen.
- 3- Algún otro factor más específico derivado del clima como la temperatura y la luminosidad.

En pruebas de laboratorio, el polen almacenado por más de cinco días a 2°C no germinó, tampoco lo hizo el polen almacenado del año anterior en las mismas condiciones; además se observó en el campo que el posible período de antesis femenina es cuando sus brácteas se encuentran abiertas casi en ángulo recto respecto al eje vertical y toman una visible coloración rojiza. Esto ocurre poco tiempo después de la antesis masculina; sin embargo, en las ramas de un mismo árbol, los amentos se abren en distintos lapsos a través de los tres o cuatro meses que dura la dispersión del polen. Por lo cual se considera que las posibilidades de polinización y fertilización permanecen durante todo este período. Si se toma en

cuenta la rápida pérdida de viabilidad del polen en su medio ambiente y el breve lapso que dura la flor femenina en estado de "receptividad" y en buenas condiciones (antes que la influencia del clima las dañe), se puede estimar el período óptimo de polinización en un máximo de tres a cinco días. Esto pareciera estar en contraposición con la alta cantidad de frutos producidos por árbol; pero quizá el enorme número de flores masculinas, la cantidad de polen producido por cada amento y la alta producción de flores femeninas en esta época de reproducción, permiten que con un solo día que coincidan los clímax de dispersión de polen y de receptividad de las flores femeninas sea suficiente para que ocurra la fertilización y la fecundación. En la muestra se encontró una relación promedio de 1,2 flores femeninas por cada flor masculina, con una ligera tendencia (pero no contundente) de mayoría de flores femeninas en las ramas inferiores; el ámbito de variación fue desde 0,48 hasta 6,2 veces flores femeninas por cada flor masculina (Ver Cuadro 1).

Se determinó una relación de un fruto por cada 4 flores femeninas en la misma rama, lo cual significa que aproximadamente un 25% de las flores femeninas logran desarrollar frutos. El ámbito de variación se determinó entre un 1% y un 85%, sin mostrar relación con la posición de la rama en el árbol. Es importante señalar que la relación del número de frutos con el número de flores en un mismo año no es lo más apropiado, porque esta especie en el proceso desde la fecundación a la producción de semilla tarda aproximadamente de 6 a 8 meses, o sea que, los frutos que se contaron en ese momento habían sido formados con la floración del año anterior, lo cual pudo haber sido afectado por una gran cantidad de factores como la precipitación, horas de luz, viento, etc. Sin embargo, nos permite tener una idea de las tendencias generales.

Furrow (1979 a y b) encontró para *A. glutinosa* que la antesis masculina no difiere en las características de los otros árboles de la misma especie. El 100% de las anteras producen polen y cerca del 85%

CUADRO 1. Relación de cantidad de flores y frutos de jaúl (*A. acuminata*)

Arbol	Flores masculinas	Flores femeninas	Frutos	Número frutos por flores femeninas	Número flores fem/mas
1	27	147	125	0,85	5,44
2	947	684	69	0,29	0,72
3	44	114	39	0,34	2,59
5	252	639	71	0,11	2,53
7	99	169	-	-	1,71
12	605	453	68	0,15	0,75
14	185	89	66	0,74	0,48
15	31	51	21	0,41	1,64
16	182	286	10	0,035	1,57
17	30	186	50	0,27	6,20
18	293	399	98	0,24	1,36
19	154	184	-	-	1,19
20	514	632	310	0,49	1,23
13	3 363	4 032	927	0,25	1,20
				Ambito 0,035-0,85	0,48-6,2

son dehiscentes; además, la maduración no es homogénea en cada individuo. Para *A. acuminata* se observó que el comportamiento es similar y el que los amentos no se abran se debe principalmente a que se formaron tardíamente y el viento frío de las noches así como el abundante sol del día les produce necrosis.

El método tradicional de secar las ramas con los amentos en el horno dio buenos resultados, pero se encontró que el intervalo de temperatura de 22 a 27°C fue el mejor pues no afectó la germinación.

Bajo el microscopio de luz los granos de polen hidratados fueron fáciles de diferenciar de los no hidratados: los hidratados son más grandes y presentan una forma circular, en oposición a los no hidratados que son más o menos pentagonales (Figura 1). El tratamiento que más afectó la germinación normal de los granos de polen fue la hidratación previa, igual a lo encontrado por Ferrari y Wallace (1975) para *Brassica*.

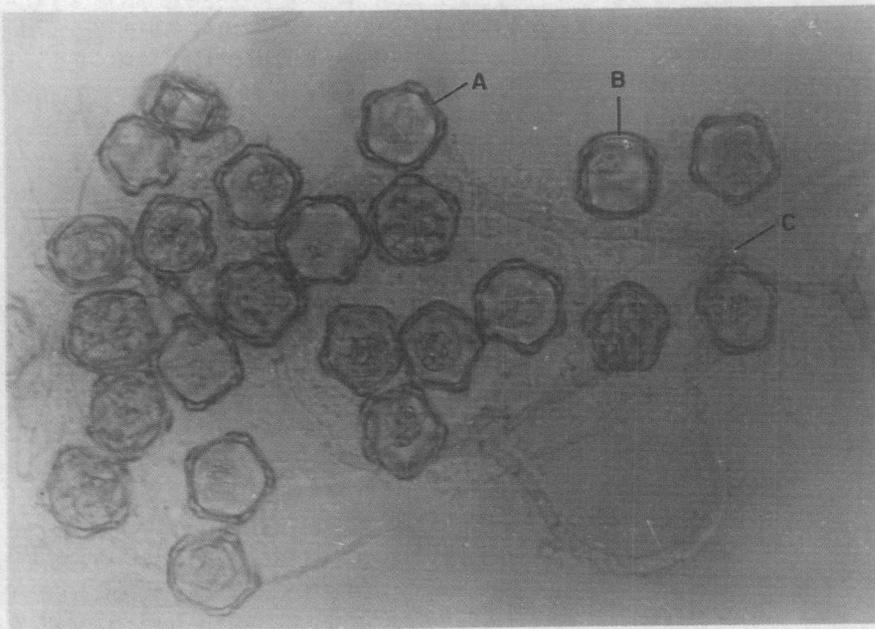


FIGURA 1. Granos de polen hidratados (A) y no hidratados (B) así como tubo polínico (C) de *Alnus acuminata*.

## LITERATURA CITADA

- Blush, T.D. 1987. An operational trial of supplemental mass pollination in a loblolly pine seed orchard. In: Proc. 19th Southern Forest Tree Improvement Conference: June 16-18. College Station, Texas. USA. p. 240-246.
- Bridgwater, F.E.; D.L. Bramlett and F.R. Mattews. 1987. Supplemental Mass Pollination is feasible on an operational scale. In: Proc. 19th Southern Forest Tree Improvement Conference: June 16-18. College Station, Texas. USA. p. 216-222.
- Ferrari, T.E. and Wallace, D.H. 1975. Germination of *Brassica* pollen and expression of incompatibility *in vitro*. *Euphytica* 24:757-765.
- Furlow, J.J. 1979 a. The systematic of an american species of *Alnus* (Betulaceae) Part I. *Rhodora* 81:1-121.
- Furlow, J.J. 1979 b. The systematic of the american species of *Alnus* (Betulaceae) Part II. *Rhodora* 81: 151-248.
- Johns, C.W. and Palmer, R. 1981. Structural sterility controlled by nuclear mutations in angiosperms. *The nucleus* 24:97-105.
- Majundar, S.K. 1967. Male sterile clones in *Hevea brasiliensis*. *Can. J. of Bot.* 45:145-146.
- Zobel, B. and J. Talbert. 1984. *Applied forest tree improvement* John Wiley & Sons. New York. 505 p.