



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**"MANEJO Y DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD DEL POLEN
PARA EL MEJORAMIENTO GENÉTICO DEL Prunus
EN EL CENTRO DEL PAÍS".**

T E S I S

PRESENTADA POR:

FRANCISCO ROMERO GONZALEZ 125165

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO AGRÍCOLA

QUERÉTARO, QRO.

1991

No. Reg. H53723

TS

Clas. 631.54

R763 m



Centro Universitario, 24 enero de 1991

H. CONSEJO ACADEMICO
FACULTAD DE QUIMICA
P R E S E N T E .

Por este conducto, nos permitimos comunicar a este H. Consejo Académico que una vez revisada la Tesis sobre "MANEJO Y DETERMINACION DE LA CALIDAD DEL POLEN EN EL MEJORAMIENTO GENETICO DEL Prunus EN EL CENTRO DEL PAIS", que con opción a recibir el Título de Químico Agrícola, presentado por el Pasante FRANCISCO ROMERO GONZALEZ, de acuerdo al inciso h) del artículo 20, del reglamento de titulación vigente. Emitimos nuestro voto aprobatorio.

A T E N T A M E N T E
"EDUCO EN LA VERDAD Y EN EL HONOR"

M.en C. J. GUADALUPE AVIÑA TAVARES

A. AZUCENA MENDOZA HERRERA

DR. SALVADOR PEREZ GONZALEZ

ING.AGR. JORGE PEREZ GONZALEZ

C.c.- Exp. del interesado.
C.c.- Archivo

Reconócelo en todos tus caminos,
y él enderezará tus veredas.
No seas sabio en tu propia opinión.
Teme a Jehová y apártate del mal;
No te niegues a hacer el bien a
quien es debido
Cuando tuvieres poder para hacerlo.

Proverbios 3/6-7 y 27

A G R A D E C I M I E N T O S

Al Campo Experimental del Norte de Guanajuato, por las facilidades prestadas para la realización de la presente Tesis.

A la Universidad Automa de Querétaro.

Al Dr. Salvador Pérez González, por la gran ayuda proporcionada no solamente en la realización de la presente Tesis, sino en muchos de los momentos de mi formación profesional. Le agradezco por compartir su entusiasmo, disponibilidad, apoyo y respecto a la vida.

A la Q. A. Azucena Mendoza Herrera, quien siempre me apoyo con sus conocimientos, y que en combinación con su amistad se realizó este trabajo.

Al Ing. Agro. Jorge Pérez González y al M. en C. J. Guadalupe Aviña Tavares, por su participación y revisión del presente trabajo.

Al Q. Raul Fraga Huacuja, por su gran amistad y por todos los consejos proporcionados en el transcurso de mi carrera.

A las Q. en A. Yolanda Aguado Hernandez, Q. en A. Lorena Resendiz Trejo, Q. A. Ma Lourdes Villegas Mediana y Q. B. Josefina Noguerras Rubio, por su gran apoyo invaluable, así como por su amistad y todas sus palabras de aliento.

Al M. en C. Candelario Mondragon Jacobo, quien a través de el se proporcionaron los elementos necesarios que facilitaron la elaboración de este trabajo.

A mis hermanos y amigos en Cristo: Tere, Pancho, Claudia, Cheli, Enoch, Carlitos y María Helena, por todas sus oraciones y por contar con ellos para siempre.

A los señores Bonifacio, Pili, Luicito y Pancho, por su gran ayuda en las labores de campo.

Y a las variedades y selecciones de duraznero, por permitirme trabajar con ellas dejando huellas en mi vida, enseñandome que las grandes amistades comienzan por un durazno.

DEDICATORIA

A mi Señor Jesucristo, por su gran misericordia y por permitirme la vida para ver terminada una meta más.

A mi padre Gonzalo, por su gran bondad y sencilles, aprendiendo de él el respeto por los demás.

A mi madre Imelda, quien me enseñó a prosperar en la vida con su ejemplo.

A mis hermanos:

Carlos, por su valioso apoyo en cualquier momento,
y regalarme muchos momentos de alegría.

Gonzalo, que a su joven edad es para mí un ejemplo.

Brenda, por compartir muchos momentos de felicidad
y de pruebas juntos.

GRACIAS POR TODO

INDICE GENERAL

Lista de cuadros y figuras.....	i
Resumen.....	ii
1) INTRODUCCION.....	1
1.1 Objetivos.....	3
1.2 Hipótesis.....	4
2) REVISION DE LITERATURA.....	5
2.1 Aspectos generales del duraznero.....	5
2.1.1 Origen.....	5
2.1.2 Distribución.....	5
2.1.4 Descripción botánica.....	6
2.2 Recolección del polen.....	6
2.2.1 Técnica de recolección del polen.....	7
2.3 Almacenamiento del polen.....	8
2.3.1 Factores que afectan la viabilidad del polen almacenado.....	9
2.3.1.1 Humedad relativa.....	10
2.3.1.2 Temperatura.....	10
2.3.1.3 Aire circundante sobre el polen.....	11
2.4 Cultivo del polen.....	13
2.5 Pruebas de germinación.....	15
2.5.1 <i>In vitro</i>	15
2.5.2 Factores que influyen en la germinación <i>in vitro</i>	16
2.5.3 Elementos para la germinación del polen.....	16
2.5.3.1 Boro.....	16
2.5.3.2 Calcio.....	18
2.5.3.3 Carbohidratos.....	19
2.5.3.4 Agar.....	20
2.5.4 <i>In vivo</i>	20
2.5.4.1 Formación de semilla.....	21
2.6 Correlación entre las pruebas <i>in vitro</i> y las pruebas <i>in vivo</i>	22
3) MATERIALES Y METODOS.....	24
3.1 Localización del sitio experimental.....	24
3.2 Pruebas <i>in vitro</i>	24
3.2.1 Evaluación de cinco medios de cultivo.....	24
3.2.1.1 Toma de datos.....	25
3.2.1.2 Diseño experimental.....	26

3.2.2	Determinación de la viabilidad del polen de siete especies de <i>Prunus</i> y de un híbrido interespecífico.....	26
3.2.2.1	Recolección del polen.....	26
3.2.2.2	Almacenamiento del polen.....	27
3.2.2.3	Diseño experimental.....	27
3.2.3	Determinación del cambio gradual de la viabilidad del polen fresco de duraznero.....	27
3.2.4	Almacenamiento y conservación del polen en un refrigerador de uso doméstico.....	28
3.2.4.1	Polen congelado.....	28
3.2.4.2	Polen fresco.....	28
3.2.4.3	Diseño experimental.....	29
3.3	Pruebas <i>in vivo</i>	29
3.3.1	Determinación del porcentaje de germinación del polen fresco.....	29
3.3.1.1	Procedimiento.....	29
3.3.1.2	Toma de datos.....	30
3.3.2	Determinación del porcentaje de germinación del polen congelado.....	30
3.3.2.1	Diseño experimental.....	31
3.4	Comparación entre las pruebas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> en base a su porcentaje de germinación.....	31
4)	RESULTADOS.....	32
4.1	<i>In vitro</i>	32
4.1.1	Evaluación de cinco diferentes medios de cultivo..	32
4.1.2	Determinación de la viabilidad del polen de siete especies de <i>Prunus</i> y de un híbrido interespecífico.....	35
4.1.3	Determinación del potencial gradual de germinación del polen fresco conservado a 5°C.....	39
4.1.4	Comparación de la viabilidad del polen fresco almacenado a temperatura sobre cero con el polen almacenado a temperatura de congelación.....	39
4.2	<i>In vivo</i>	46
4.3	Correlación entre el polen estudiado <i>in vitro</i> y el estudiado <i>in vivo</i>	48
5	DISCUSIONES.....	49
6	CONCLUSIONES.....	54
7	BIBLIOGRAFIA.....	56
8	APENDICE.....	60

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro No 1	Análisis de varianza entre medios de cultivo para el polen.....	32
Cuadro No 2	Diferencias en la germinación registrada entre los cinco medios de cultivo.....	33
Cuadro No 3	Porcentaje de germinación del polen de diferentes especies de <i>Prunus</i> y de un híbrido interespecífico.....	37
Cuadro No 4	Porcentaje de germinación del polen conservado a temperaturas superiores e inferiores a 0°C..	43
Cuadro No 5	Análisis de varianza correspondiente a las pruebas <i>in vivo</i>	46
Cuadro No 6	Porcentaje de germinación del polen conservado a temperaturas superiores e inferiores a 0°C...	46
Cuadro No 7	Valores encontrados en la correlación entre los estudios <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	48
Figura No 1	Porcentaje de germinación de los cinco medios de cultivo.....	34
Figura No 2	Porcentaje de germinación del polen de especies de <i>Prunus</i>	38
Figura No 3	Potencial gradual de germinación del polen fresco conservado a 5°C.....	40
Figura No 4	Porcentaje de germinación del polen fresco de variedades de duraznero.....	41
Figura No 5	Porcentaje de germinación del polen conservado a cuatro temperaturas.....	45
Figura No 6	Calidad del polen de duraznero en base a pruebas <i>in vivo</i>	47

RESUMEN

Con el propósito de conocer la viabilidad del polen de diversas especies de *Prunus* y haciendo mayor énfasis en la especie *Prunus persica*, se llevaron a cabo estudios *in vitro* e *in vivo* para determinar la calidad que este presenta cuando es obtenido de los programas de intercambio genético en México y con el extranjero, de tal forma que el fitomejorador pueda conocer dicha viabilidad y hacer uso del polen en el momento necesario. Por otra parte, se estudió el comportamiento de la viabilidad del polen de la especie *Prunus persica*, cuando éste es sometido a congelación durante un determinado tiempo.

El objetivo fundamental fue el de conocer la calidad del polen cuando es almacenado durante un tiempo razonable a temperatura de congelación, haciendo uso de un refrigerador doméstico.

Los trabajos experimentales fueron desarrollados en las instalaciones del Campo Experimental del Norte de Guanajuato, durante el periodo de 1988 a 1990.

El material genético lo constituyeron diversas especies de *Prunus*, así como variedades de la especie *Prunus persica* y haciendo uso de un híbrido interespecífico de almendro X durazno.

El diseño experimental fue el completamente aleatorio tanto para los estudios realizados *in vitro* e *in vivo*.

En las determinaciones hechas *in vitro*, primeramente se evaluaron cinco medios de cultivo, con el propósito de encontrar uno que permitiera conocer más claramente la viabilidad del polen, encontrándose que el medio 2 fue el indicado para dicha prueba. Con este medio se procedió a conocer la viabilidad de las diferentes especies de *Prunus* las cuales fueron almacenadas durante 12 semanas con una temperatura de 0°C. Al final de la prueba se encontró que el porcentaje de germinación de todas las especies decreció paulatinamente, a excepción del híbrido de almendro X durazno.

Los estudios *in vitro* del polen de la especie *Prunus persica*, tuvieron el propósito de conocer el comportamiento de su polen para su mejor conservación. Para lo cual se almacenó el polen a cuatro diferentes temperaturas, las cuales fueron: a 0°C, 5°C, -5°C y a -8°C, en donde el polen conservado a 0°C y a 5°C fue fresco, mientras que el conservado a -5°C y a -8°C se almacenó durante un año y 18 meses respectivamente. Los porcentajes de germinación encontrados para cada tratamiento se realizaron durante los meses de marzo, abril y mayo, haciendo uso de la placa de

agar para encontrar dichos porcentajes.

Los resultados encontrados muestran que el porcentaje de germinación del polen fresco conservado a 5°C disminuyó rápidamente a las 6 u 8 semanas de iniciada su conservación. Por otra parte el porcentaje de germinación del polen congelado puede permanecer en buenas condiciones dentro de bolsas de plástico colocas a temperaturas abajo de -5°C, durante un año haciendo uso de un refrigerador doméstico.

Con lo que respecta a las pruebas *in vivo*, los resultados mostraron que no existe diferencia en porcentjes de germinación del polen congelado, el polen fresco y el testigo.

1) INTRODUCCION

Tradicionalmente en México el duraznero se ha producido por semilla durante casi 400 años (Hedrick, 1917), lo cual a generado una gran diversidad y dispersión a un gran número de climas y sistemas de producción (Pérez, 1988).

El duraznero ocupa un lugar muy importante en la producción nacional de especies de clima templado, ya que existe una gran demanda para su consumo en fresco y constituye la materia prima para una floreciente industria (Salazar, 1977).

Actualmente existen aproximadamente 35 mil hectarias en el centro del país que producen un promedio de más de 200 mil toneladas de fruta, equivalentes a 200 millones de pesos y que generan empleos para casi 40 mil familias (Pérez, 1988).

Sin embargo, existen varios problemas que limitan la producción comercial de dicha especie, debido principalmente a la falta de variedades que sean resistentes a el ataque de enfermedades como : La cenicilla, roya y tiro de munición, así como con variedades que tengan una época de floración tardía para que queden a salvo del periodo de heladas, maduración rápida o muy tardía para ampliar el periodo de cosecha (Pérez, 1988).

En toda la historia del cultivo del duraznero en México jamás se ha hecho mejoramiento genético a través de hibridaciones, por lo que se carece de experiencia que facilite la generación de variedades.

En este sentido el manejo del polen juega un papel fundamental y permite una utilización de una amplia variación genética a través del uso de progenitores con diferentes épocas de floración y el intercambio de polen con otros programas de mejoramiento genético en México y con el extranjero.

1.1) O B J E T I V O S

- 1.- Determinar si existe variación entre diferentes medios de cultivo para la germinación del polen.
- 2.- Determinar la viabilidad del polen de diferentes especies de *Prunus* y de un híbrido interespecífico, en base a su porcentaje de germinación *in vitro*.
- 3.- Conocer la disminución gradual del potencial de germinación del polen fresco de duraznero conservado a 5°C durante la época de floración.
- 4.- Comparar la viabilidad del polen fresco de duraznero con el congelado en un refrigerador de uso doméstico.
- 5.- Conocer el comportamiento de la viabilidad del polen de duraznero después de éste es descongelado.
- 6.- Comparar el porcentaje de germinación de los granos de polen estudiados *in vitro* , con el obtenido en las pruebas *in vivo* , en el asentamiento o "amarre de fruta".

1.2) H I P O T E S I S

- 1.- Los medios utilizados son diferentes para obtener el porcentaje de germinación del polen.
- 2.- Presentan diferencias en porcentajes de germinación, las especies de *Prunus* , así como el híbrido interespecífico.
- 3.- Existe una disminución gradual del potencial de germinación del polen fresco.
- 4.- La viabilidad del polen fresco sera diferente a la del polen congelado.
- 5.- Habra diferencias en la viabilidad del polen después de que este ha sido descongelado.
- 6.- Se encontrarán diferencias en los porcentajes de germinación de los granos de polen, tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo*.

2) REVISION DE LITERATURA

2.1) ASPECTOS GENERALES DEL DURAZNERO.

2.1.1) ORIGEN.

El duraznero se consideró originario de Persia, de donde deriva el nombre específico. Teofrasto, Plinio y Columela lo citaron en sus obras. Sin embargo en base a información más reciente, se considera que la China Central es el verdadero centro de origen de este frutal (Salazar, 1977).

2.1.2) DISTRIBUCION.

Es una de las especies de frutales más ampliamente distribuidas. En los países europeos que bordean el Mediterráneo lo cultivan en gran escala hasta la parte central de Europa. En nuestro país se encuentra ampliamente distribuido, siendo los principales estados de la República Mexicana en orden de importancia : Zacatecas, Michoacán, Edo. de México, Puebla, Chihuahua, Sonora, Oaxaca, San Luis Potosí, Guerrero, Veracruz y Morelos (Pérez, 1988; Salazar, 1977).

2.1.3) CLASIFICACION BOTANICA.

Familia	ROSACEA
Tribu	PRUNOIDEA
Género	<i>Prunus</i>

Sub-género	<i>Amygdalus</i>
Especie	<i>Prunus persica</i> (L) Batsch

2.1.4) DESCRIPCION BOTANICA.

Pertenece al género *Prunus* , que son plantas leñosas o herbáceas, con hojas provistas de estípulas, flores pentámeras hermafroditas; poseen cáliz y corola, androceo con estambres en número doble, triple o cuádruple al de los pétalos. Ovarios simi-infero o infero, carpelo en número sumamente variable, monospermo o polispermo. Frutos muy diversos: folículo, cápsula y drupa. Las semillas carecen de endospermo en la mayoría de la veces . El cáliz es ordinariamente caduco, las hojas siempre simples donde estas pueden ser dentadas, acumunadas o recortadas de 6 a 15 cms de longitud. El hueso es surcado (Salazar, 1977).

2.2) RECOLECCION DEL POLEN.

El el siglo XX se han desarrollado algunos métodos de recolección y manejo del polen que varían con la especie y el propósito para el cual seran usados. Las técnicas para la recolección y preservación deben facilitar su utilización en programas de mejoramiento genético (Stanley, 1974).

En general, solo se requieren pequeñas cantidades de polen, unos cuantos miligramos son suficientes para el mejoramiento de diversas especies, pero en la recolección del polen es

necesario tomar precauciones, procurando de que el polen se encuentre libre de contaminación y que sea genéticamente puro (Linskens, 1974).

Syiven en 1909, fué el primero en iniciar el mejoramiento artificial en árboles forestales de abeto y de pino. Para mediados del año 1950, los programas de reforestación y cultivos agrícolas mejoraron utilizando polinizaciones controladas que repercutieron en la producción de granos de mejora calidad. Muchos kilogramos de granos de polen de diversos árboles y de genotipos herbáceos se almacenan para su subsecuente uso (Stanley, 1974).

2.2.1) TECNICA DE RECOLECCION DEL POLEN.

El polen es recolectado en base a las características donde este situada la planta para determinar el volumen y tipo de polen y así facilitar otros usos y aplicaciones, ya que existen algunos factores del medio ambiente que influyen en la viabilidad, los cuales seran tratados más adelante. Es por eso que se han tratado técnicas para su recolección (Stanley, 1974).

Existen diferentes técnicas que han sido utilizadas para varias especies. En general, se tienen que asilar las fuentes de polen, por ejemplo : las flores se recolectan de la planta y se cubren para evitar la contaminación de otras variedades o especies, luego se espera hasta la dehiscencia para recoger

la cantidad deseada, después de que el polen es liberado (Linskens, 1974). Parfitt en 1989, estudió la comparación de diferentes métodos para estimar la viabilidad del polen de la especie *Prunus persica*, recolectó las flores antes de la antesis.

Leitch (1971), sugiere que, para recolectar los granos de polen, los botones deben ser aereados sobre una badeja cubierta con papel o celofán, en donde después de la dehiscencia se sacuden para que el polen caiga sobre estos.

2.3) ALMACENAMIENTO DEL POLEN.

Los horticultores y mejoradores de plantas se han interesado en la cruce de especies, variedades y géneros uniformes, produciendo nuevos tipos de plantas mejoradas para los requerimientos humanos. Sin embargo, algunos de estos intentos han fallado, debido a las barreras en el cruzamiento, por ejemplo: en la floración de padres seleccionados que difieren en tiempo o en lugares distintos, el poco éxito de los granos de polen en la germinación en el estigma, el estallamiento de los tubos polínicos en el estilo, así como su mal funcionamiento del crecimiento, no alcanzando a los óvulos después de la abscisión de la flor (Blake, 1945; Haheshwari, 1950). Hoy en día es posible almacenar polen viable, no teniendo cabida la diferencia en el tiempo de floración de los padres en programas de

mejoramiento genético. Cuando el polen es almacenado puede ser fácilmente transportado largas distancias, fuera de una baja viabilidad, teniendo así resuelto el problema de los padres en diferentes regiones. El mantenimiento de la viabilidad del polen en un envase y en otras circunstancias incontrolables del medio ambiente, es de particular avance para los envíos de larga distancia; cada envío requiere hoy costos de empaquetamiento y precauciones especiales para mantener la viabilidad en el camino. Tal es el caso del polen de pino (*Pinus taeda*) que fue embarcado de Brasil a Nueva Zelanda, que por ciertas circunstancias, el polen tuvo que regresar de nuevo a Brasil, permaneciendo durante dos meses en el laboratorio, y encontrándose en excelentes condiciones al cabo de este tiempo (King, 1954).

La referencia más fácil en el manejo y almacenamiento del polen, concierne al de la palma, siendo Zirkle (1935), quien lo encontró viable todavía después de 400 años. La viabilidad del polen almacenado ha sido investigada principalmente en relación a la humedad relativa, temperatura, efecto de diluyentes y nutrientes, así como algunos otros factores que son considerados ahora (Holman y Brubaker, 1926).

2.3.1) FACTORES QUE AFECTAN LA VIABILIDAD DEL POLEN ALMACENADO.

El mantenimiento de la capacidad de germinación del polen depende de las condiciones de almacenamiento como son: la

húmedad relativa y la temperatura principalmente (Stanley, 1974).

2.3.1.1) HUMEDAD RELATIVA.

La húmedad relativa durante el almacenamiento es decisiva sobre la longevidad del polen (Pfundt, 1910 citado por Stanley, 1974). La mayor parte de las especies mantienen la mejor viabilidad del polen a baja humedad. Es difícil generalizar una humedad relativa óptima, existiendo un gran número de resultados reportados para diferentes especies. Algunos autores indican que la longevidad del polen está correlacionada negativamente con la humedad relativa durante el almacenamiento. Estudios realizados por Nang (1975), sobre el efecto que tiene el polen de cebolla a diferentes porcentajes de humedad relativa, encontrándose que a mayor humedad relativa menor es el porcentaje de germinación. La viabilidad generalmente se mantiene más estable reduciendo la humedad relativa cerca del 6 % en el almacenamiento del polen (Gollmick, 1942). Durante el almacenamiento los procesos metabólicos y la respiración se reducen drásticamente como consecuencia de la baja cantidad de agua contenida en el polen maduro (Stanley, 1974).

2.3.1.2) TEMPERATURA.

Nang (1975), observó en el polen de cebolla que a medida que aumentaba la temperatura, la germinación del polen decrecía. El estudio del polen de 36 especies indican que la

viabilidad puede ser extendida sustancialmente a una temperatura a bajo de cero grados centigrados (Olmo, 1942) y que la capacidad de germinación se presenta mejor a una temperatura de -12°C . Becker en 1932, observó que el polen de ciruelo y cerezo son preservados más tiempo a una temperatura a bajo de 0°C .

Para algunas especies el pre-secado es esencial antes del almacenamiento con una temperatura de congelación. La viabilidad puede extenderse de uno a tres años cuando el polen se almacena de 0°C a -15°C con una humedad relativa entre 10% y 50 % (Stanley, 1974).

Las temperaturas extremas bajas desde -180°C a -270°C , obtenidas por gases líquidos, permiten asumir que la actividad citoplasmática sea casi nula (Bequerel, 1929 citado por Stanley, 1974). Las observaciones de Bredermann(1947), aseguran que el polen de *Lipinus* conservado a -180°C podría vivir cerca de un millón de años.

2.3.1.3) AIRE CIRCUNDANTE SOBRE EL POLEN.

Un incremento en el porcentaje de dióxido de carbono; lo cual ocurre cuando el polen es almacenado con hielo seco; prolonga su viabilidad (Knowtton, 1922), mientras que una atmosfera de oxígeno acorta tal viabilidad (Gringgs, 1950 citado por Stanley, 1974). También en estudios realizados por Resnik (1958) sobre el polen de *Citrus* , observó que el

porcentaje de germinación inicial se incrementa con altas concentraciones de dióxido de carbono. Esto es atribuido a una acumulación de CO_2 alrededor del grano de polen como consecuencia del incremento de carbohidratos (Linskens, 1974).

Tanto el almacenamiento como la recolección manual del polen pueden modificar la viabilidad, cuando las condiciones no se uniformizan. Los métodos de ensayo adquieren mayor importancia para determinar la calidad antes y después del almacenamiento. Las condiciones de almacenamiento son una base para la comparación de la capacidad de germinación *in vitro* o para saber que posibilidades tiene el polen de fertilizar al óvulo (Stanley, 1974).

Las muestras de polen almacenado, aunque poseen altas capacidad de germinación no producen tubos polínicos lo suficientemente largos cuando son evaluados *in vitro*. Las evaluaciones de polen almacenado muestran que las pruebas de germinación *in vitro* no siempre pronostican lo que suceda en las evaluaciones *in vivo*, como es el caso de la género *Gossypium*, que a pesar de no mostrar elevados porcentajes de germinación *in vitro*, produjo una pequeña pero satisfactoria cantidad de semillas (Vasil, 1962).

2.4) CULTIVO DEL POLEN.

Giovanni Batista Amici (1824-1890), astrónomo y matemático; mientras examinaba el estigma de la especie *Portulaca oleracea*; notificó que uno de los granos de polen finalizaba con un "pelo", siendo este el descubrimiento del tubo polínico. También observó que este tubo polínico entraba en el tejido del estigma y que gradualmente desaparecía en estilo. En 1850, concluyó que los tubos polínicos se alargaban poco a poco, y que finalmente hacían contacto con los óvulos (Maheswari, 1950).

Los horticultores y fitomejoradores frecuentemente fallaban para conseguir la fertilidad de los óvulos a pesar de todos los cuidados que tenían durante la polinización artificial. Swaminathan (1955) obtuvo semilla viable de la cruce de la especie *Polanum pinnatisectum* con *P. lanticiforme* removiendo el estigma y parte del estilo para colocarles una gota de agar-azúcar, con medio adecuado para la germinación del polen.

Las observaciones tempranas del crecimiento del tubo polínico parecen ser de Von Mohl (1834), quien notificó que en una atmósfera con baja de humedad los granos de polen producen tubos polínicos cuando son cultivados *in vitro*, pero que esto varía de especie a especie y de variedad a variedad.

Van Tieghem (1869), Lidfoss (1896) y Jost (1905) reportaron que fueron capaces de cultivar en medio artificial a el polen de la especie *Dactylis hippeastrum*, siendo estas algunas evidencias del cultivo artificial del polen. Vasil (1958a) encontró que el polen puede germinar satisfactoriamente en una solución acuosa de sacarosa. El polen de algunas plantas pueden germinar fácilmente bajo condiciones bajas de respiración, mientras que en otras, los requerimientos pueden ser mayores. También observaron que el largo del tubo polínico obtenido *in vitro* es más pequeño que el observado *in vivo*. Consecuentemente uno de los principales problemas es obtener en la germinación *in vitro* el largo de los tubos que se presenta *in vivo*, siendo en pocos casos que el largo de los tubos polínicos cultivados sean iguales a los naturales (Vasil, 1960b).

Durante años recientes los granos de polen han sido utilizados para estudios fisiológicos por que tienen una estructura simple y presentan una estructura metabólica fácil de estudiar. Como es altamente sensible a los factores externos, particularmente a la temperatura y humedad relativa, la germinación de polen muestra gran variedad cuando son colectados de diferentes anteras de la flor (Brink, 1942; Kubo, 1954; Vasil, 1958a). No es sorpresa que los granos de polen diplíodes y tetraplóides, requieren de diferentes medios para la germinación óptima (Tanaka y Mukai, 1955). Algunos granos de polen requieren ser recolectados bajo

condiciones normales de medio ambiente (Stanley, 1974).

Desde la calidad y densidad, así como el largo del tubo polínico en número igual de granos de polen tienden a ser diferentes en el medio de cultivo (Visser, 1955). La experiencia de algunos investigadores como Cubo (1954) y Visser (1955), ha mostrado que a pesar de las precauciones que se tengan durante la germinación *in vitro*, siempre hay alguna variación, como puede ser la viabilidad inherente de los granos de polen o las condiciones climáticas que prevalecen durante el crecimiento y florecimiento de la planta . El cambio de estación varía también en la germinación de los granos de polen los cuales requieren altas concentraciones de azúcares y ácido bórico (Stanley, 1974).

2.5) PRUEBAS DE GERMINACION.

2.5.1) *In vitro*.

Las pruebas de germinación del polen son para conocer la viabilidad de este, llevándose a cabo con una pequeña muestra de polen que después puede ser observada en el microscopio. El porcentaje de germinación se determina en base al número de tubos polínicos producidos después de determinado tiempo. Este porcentaje es considerado como índice de viabilidad de la muestra: Las pruebas de germinación asumen que podrán ser aproximadas a las que se registren en la planta, en donde el largo de los tubos polínicos sera más corto que los

observados *in vivo* (Stanley, 1974).

2.5.2) FACTORES QUE INFLUYEN EN LA GERMINACION *in vitro*.

Los factores que influyen en el crecimiento del tubo polínico durante las pruebas *in vitro* incluyen la especie, la variedad, la época de recolección, la estación del año y las condiciones de almacenamiento. La tabla 1 muestra las condiciones óptimas para la germinación, así como una lista de pruebas para algunas especies.

2.5.3) ELEMENTOS INDISPENSABLES PARA LA GERMINACION DEL POLEN *in vitro*.

2.5.3.1) B O R O.

Durante los años 1932, 1933 y 1935, Schmuker publicó una serie de artículos sobre los efectos del ácido bórico como estimulante en la germinación del polen. Él observó que el polen de la género tropical *Nymphaea* germinaba en una solución con 1 % de glucosa, pero que el resultado satisfactorio de la germinación se debía a que añadía extracto del estigma al medio de cultivo. Posteriormente él analizó el extracto, encontrando una apreciable cantidad de ácido bórico. El análisis cuantitativo reveló que los granos de polen requieren de concentraciones de ácido bórico similares a las que se presentan en las secreciones del estigma. Concluyó que el boro juega un papel estratégico en la germinación del polen. También observó que las

concentraciones de 0.001 a 0.01 % de este ácido promueven el crecimiento de los tubos polínicos en gran número de especies.

Algunos investigadores dicen que, concentraciones de 10 ppm (0.0001%) ó mayores de ácido bórico, es tóxico en crecimiento de algunas plantas (Visser, 1955). Sin embargo, los granos de polen pueden tolerar concentraciones superior a 1.200 ppm (0.12%), aunque, los resultados óptimos fluctúan entre 10 a 150 ppm (0.0001 a 0.015%) (Heslop-Harrison, 1971).

El papel que juega el boro en la germinación del polen es el de interaccionar con otras sustancias, así por ejemplo la combinación del boro con los azúcares forma un complejo azúcar-borato (ionizable), el cual es translocado con gran facilidad a través de la membrana citoplasmática (Linskens, 1974).

En resultados obtenidos en polen de *Petunia* se observó que el ion borato esta asociado con la membrana celular, donde reacciona químicamente con el azúcar molecular, facilitando el paso a través de la membrana celular para que el azúcar sea liberado dentro de la célula. En algunas ocasiones y circunstancias la adición del boro limita la absorción y translocación del azúcar, siendo el factor dominante en dicha translocación (Gauch y Duggar, 1953).

Tabla Nº 1. Condiciones de germinación para pruebas de viabilidad

Espece	Tem. °C	Nutrien- tes.	Medio.	Referencias.
Gymnospermas				
<i>Pinus canariensis</i>	27	ninguno	H ₂ O	Duffield, 1954
<i>P. poderosa</i>	27	ninguno	H ₂ O vap.	Duffield, 1954
<i>P. elliottii</i>	25	EDTA-Fe	H ₂ O	Echols, 1956
<i>P. edulis</i>	30	2% sac., B	1% agar	Chira, 1967
<i>Larix sibirica</i>	27	B, Ca, Mg y KNO ₃	H ₂ O	Rouse, 1970
Angiospermas monocotiledoneas				
<i>Zea mays</i>	27	15% sac., B CaNO ₂	0.7% de agar	de Sen, 1958
<i>Poa cereale</i>	27	25% sac., B	0.6% de agar	Pfahler, 1965
<i>Areca catechu</i>	28	.75% sac., B	H ₂ O	Baruah, 1956
<i>Lilium candidum</i>	25	12% sac., B, Ca	H ₂ O	Verman, 1958
<i>Lilivia spp</i>	20	10% sac., B	H ₂ O	Tsuka, 1968
dicotiledoneas				
<i>Beta vulgaris</i>	20	30% sac., B	6% gela- tina	Glenk, 1969
<i>Corylus avellana</i>	30	18% sac., B	H ₂ O	Hoekstra, 1972
<i>Eucalyptus globulus</i>	30	20% sac., B	1.5% de agar	Boden, 1958
<i>Jugla is nigra</i>	27	20% sac., B luz	H ₂ O	Hall, 1971
<i>Chysanthemum barbab</i>	20	30% sac., B	H ₂ O	Tsuka, 1968

2.5.3.2) C A L C I O .

Los estudios realizados por Brewbaker (1963), sobre el papel del ion calcio en la germinación y el crecimiento del tubo polínico, muestran que el calcio es también un elemento importante en su desarrollo. Mencionando también que se puede utilizar un alto porcentaje de calcio (300 a 500 ppm, como $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) para el crecimiento óptimo del tubo

polínico, aunque también un bajo contenido de calcio permite su desarrollo.

2.5.3.3) C A R B O H I D R A T O S .

Los carbohidratos también juegan un papel importante en el desarrollo del tubo polínico. Los azúcares simples son los principales substratos metabolizados, de donde cada especie tiene sus requerimientos especiales de azúcares libres (Heslop, 1971).

Los carbohidratos se presentan principalmente en la pared celular y polisacaridos citoplasmáticos. La galactosa, glucosa y lactosa, estimulan la respiración del polen y a su vez, la glucosa es estimulada por el ácido bórico en el metabolismo del polen. O'Kelley (1957), al realizar sus estudios de carbohidratos con el boro, observó que estos son estimulados por el boro cuando se agregan en forma ionizada, en donde la concentración del boro es de 100 ppm agregada a un medio de cultivo que contiene sacarosa, los cuales al reaccionar forman un complejo azúcar-borato que recorre la membrana celular más rápidamente que la sacarosa sola. El crecimiento del polen *in vitro* demanda azúcares como la sacarosa y pentosa (ribosa y desoxirribosa) asilados como azúcares libres, que son productos hidrolíticos de ácidos nucleicos. Algunos azúcares; como la pentosa; están también asociados con proteínas y lípidos en el polen (Heslop, 1971).

2.5.3.4) A G A R .

El agar o gelatina es frecuentemente usada para la germinación del polen y suple a la humedad del estigma y también a varios carbohidratos. Otras sustancias que estimulan el crecimiento del polen pueden añadirse al medio (Kubo, 1955). La adición al medio de un azúcar como la sacarosa, hace que sea fácilmente metabolizada por el polen y minimiza el crecimiento de hongos. Una ventaja adicional de la placa de agar es que facilita su manejo y la posibilidad de preparaciones permanentes. Además las condiciones de aereación son muy buenas sobre la superficie de la placa (Stanley, 1974).

2.5.4) *I n v i v o* .

A pesar de que las determinaciones *in vitro* reporten una baja viabilidad es posible obtener un buen porcentaje de "amarre" de fruta cuando se usa para polinizar flores de especies anuales (Johri, 1961). Algunos autores dicen que las pruebas de germinación *in vivo* no siempre son válidas, y que los métodos son pobres y laboriosos, mientras que otros como Stanley (1974) aseguran que proporciona un criterio más válido de calidad como los métodos *in vitro*.

Asumiendo que el principal propósito de una prueba de viabilidad es distinta de el de fertilidad, es determinante que el polen pueda germinar, siendo más frecuente una prueba *in vitro*. Las pruebas *in vivo* requieren que el polen sea

colocado en el estigma, en donde después de un período, el estilo es removido y el número de granos de polen que crecieron en él es comparado con el número de granos que no penetraron, es decir, con aquellos que no produjeron tubos polínicos (Stanley, 1974).

A pesar de todo, ciertas pruebas no siempre son válidas debido a que en la superficie de estilo se inhibe la penetración del tubo polínico, debido a que existen factores bioquímicos genéticos que son los que limitan el potencial de crecimiento o también a mecanismos que detienen el crecimiento, oponiéndose a los tejidos de la especie (Pérez, 1985). Otros factores que distorsionan los resultados en las pruebas *in vivo* incluyen la aplicación de altas cantidades de polen (Linskens, 1974).

2.5.4.1) FORMACION DE LA SEMILLA.

La capacidad del polen para producir semilla viable, es usada frecuentemente como un criterio para determinar la viabilidad del polen. Estas pruebas pueden ser valiosas por que el crecimiento del polen se encuentra en medio más propicio (Stanley, 1974).

En las pruebas *in vivo* se lleva a cabo la emasculación y se polinizan las flores que luego pueden protegerse para evitar la polinización natural, colocando sobre ellas una capucha de plástico, tela o aluminio. Cuando el fruto esta

maduro, estas protecciones se eliminan. Las variables como el número de óvulos viables para la fertilización, la calidad del polen, el momento de la aplicación sobre la superficie del estigama y el tiempo de polinización son importantes para lograr una buena fecundación (Walden, 1961).

2.6) CORRELACION ENTRE LA VIABILIDAD DEL POLEN *In vitro* Y EL " AMARRE " DE FRUTA.

Frecuentemente el polen almacenado no germinación *in vitro*, pero *in vivo* produce un fruto satisfactorio. En algunas ocasiones, se puede tener que las pruebas *in vitro* muestren resultados indicando que el polen fecundara un porcentaje bajo de óvulos (Knowlton, 1928). Las fallas de la germinación *in vitro* pueden ser probablemente debido a diferentes causas durante el almacenamiento, como son la temperatura y la humedad relativa principalmente, las cuales son compensadas más tarde por el estigma y tejidos de el estilo durante el tiempo de germinación en la flor. Esto se ha visto en trabajos realizados en uva (Olmo, 1942), pistache (Stone, 1943) y en tomate (Visser, 1955), en donde la germinación del polen *in vitro*, fue muy pobre (menos del 5 %), pero en las pruebas *in vivo* el " amarre " de fruta fue muy bueno. El polen de papa almacenado a -1°C por 7, 12 y 13 meses no germinó en algunas ocasiones *in vitro*, pero cuando fue usado para polinizaciones artificiales dió fruta y semilla. Esta ausencia de germinación *in vitro* no necesariamente implica

que el polen almacenado este muerto o que no sea usado para el campo (King, 1955).

Bullock (1947), encontró que el polen de manzana dio un 35 % de germinación *in vitro* produciendo buenos resultados en el campo. Visser (1955), comparó las pruebas de germinación *in vitro* con las obtenidas *in vivo*, en polen de manzana, pera y tomate; el polen de tomate no germinó durante las pruebas *in vitro*, pero se pudo obtener fruto en el campo, lo que sugiere que a pesar de la baja viabilidad *in vitro*; por ejemplo de un 30 % o menos; es posible encontrar un buen " amarre " de fruta durante los ensayos *in vivo*.

3) MATERIALES Y METODOS

3.1) LOCALIZACION DEL SITIO EXPERIMENTAL.

Los experimentos se realizaron en el Campo Experimental del Norte de Guanajuato, ubicado en el km 68.5 de la carretera Qro-SLP entre las coordenadas $21^{\circ} 06' 30''$ de latitud norte y $100^{\circ} 32' 20''$ de longitud oeste, teniendo una altitud de 2,005 metros sobre el nivel del mar.

En el se llevarón a cabo 5 estudios para determinar la calidad y el manejo del polen de diferentes especies de *Prunus*, que pretenden realizar un uso más eficiente del mismo en programas de mejoramiento genético.

3.2) PRUEBAS *in vitro*.

3.2.1) Evaluación de 5 medios de cultivo para la germinación del polen.

Se utilizarón 5 medios de cultivo para determinar la capacidad de germinación del polen *in vitro*, en donde los niveles de sales utilizadas fueron los mismos, solamente se fueron variando las formulaciones.

Los medios de cultivo evaluados fueron los siguientes:

1.- 2.3 % de agar.

- 2.- 2.3 % de agar, 100 ppm H_3BO_3 y 5 % de sacaros
- 3.- 2.3 % de agar, 100 ppm H_3BO_3 , 300 ppm $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ y 5 % de sacarosa.
- 4.- 2.3 % de agar, 300 ppm $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ y 5 % de sacarosa.
- 5.- 2.3 % agar, 100 ppm H_3BO_3 , 300 ppm $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 200 ppm $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 100 ppm KNO_3 y 5 % de sacarosa.

Los medios una vez preparados fueron esterilizados en una autoclave a 15 atm de presión y a una temperatura de $120^\circ C$ durante 15 minutos. Posteriormente fueron vaciados en cajas Petry hasta su solidificación.

Para poder evaluarlos, se utilizó polen fresco que se encontraba almacenado en frascos de plástico a una temperatura de $5^\circ C$, de donde se tomaron muestras con un pincil que se sacudió ligeramente sobre el borde de la caja Petry, para que los granos de polen callerán sobre la placa de agar. Posteriormente las cajas se colocaron en un lugar fresco a una temperatura de $24^\circ C$ para que de llevase a cabo el proceso de germinación.

3.2.1.1) TOMA DE DATOS.

Después de seis horas se realizaron las lecturas en las que se contarón el número de granos con tubos polínicos, utilizando para tales observaciones un microscopio óptico con el objetivo de 10x, los datos tomados fueron los siguientes:

- a.- Número total de granos de polen en un campo del microscopio.
- b.- Número de granos de polen germinados en ese mismo campo.

La división de (b) entre (a) nos da como dato el porcentaje de germinación , el cual fue transformado por el arco seno de la \sqrt{X} (Little, 1976), en donde X es el valor de porcentaje encontrado.

3.2.1.2) DISEÑO EXPERIMENTAL.

El diseño utilizado para analizar los datos fué el de completamente al azar con 5 tratamientos y 3 repeticiones.

3.2.2) Determinación de la viabilidad del polen de siete especies de *Prunus* y de un híbrido interespecífico.

Las especies estudiadas fueron las siguientes: *Prunus mexicana*, *P. tomentosa*, *P. salicina*, *P. serotina*, *P. armeniaca*, *P. davidiana*, *P. persica* así como un híbrido interespecífico de almendro X durazno.

3.2.2.1) Recolección.

La recolección de los granos de polen se realizó de la siguiente manera: Se tomaron de 80 a 100 botones florares antes de que comencarán a abrirse, desechando las flores que se observaran dañadas y con anteras abiertas. Por medio de unas pinzas depiladoras se quitaron las anteras de flor

colocandolas sobre una hoja de papel en un lugar seco y fresco durante 24 horas, con el propósito de estas se abrieran y liberaran a los granos de polen.

3.2.2.2) Almacenamiento.

Para almacenar a los granos de polen se utilizaron bolsas de polietileno y frascos de plástico (de los usados para guardar rollos de película), etiquetandolos con la fecha y nombre de la especie coletada . Una vez almacenado el polen en los frascos y bolsas, se colocaron en un refrigerador de uso doméstico a una temperatura de 0°C. Estos granos de polen fueron almacenados durante 12 semanas, determinando cada 15 días sus porcentajes de germinación.

3.2.2.3) Diseño experimental.

El diseño utilizadó para analizar los datos fue el completamente al azar con 9 tratamientos y 3 repeticiones, para cada una de las fechas de evaluación y aplicando la prueba de rango multiple de Dunca.

3.2.3) Determinación del cambio gradual de la viabilidad del polen fresco de duraznero conservado a 5°C.

Con el propósito de conocer como va disminuyendo el potencial de germinación, se realizó el experimento siguiente: durante la época de floración del duraznero (marzo y abril), se efectuaron pruebas de germinación *in vitro* de los

materiales que a continuación se mencionan: Elegant Lady, III-11-27, USDA Fresno, NJ 8514, NJ 8557, FlavorCrest, Angel, IV-15-16 y Flor Amazcala. El polen de dichas variedades fue colectado y almacenado como se menciona en el estudio (3.2.2) . Para cada una de las variedades se registraron tres repeticiones por cada fechas de determinación, calculando sus promedios, de tal forma que se pudiera realizar una gráfica de porciento de germinación contra el tiempo.

3.2.4) Almacenamiento y conservación del polen en un refrigerador de uso doméstico.

3.2.4.1) Polen congelado.

Se almacenó polen de seis variedades de duraznero durante 9 meses a una temperatura inferior a -5°C en un refrigerador de uso doméstico. Las muestras se evaluarón de dos maneras:

- a.- Determinación de la viabilidad a los 7, 8 y 9 meses de almacenamiento en congelación.
- b.- Cambio en la viabilidad después del periodo de congelación y colocado a una temperatura de 5°C para ser utilizado durante la época de floración.

3.2.4.2) Polen fresco a 0°C y 5°C .

Se almacenó polen fresco de 10 variedades de duraznero a una temperatura de 0°C y 5°C , determinando su porcentaje de germinación durante la época de floración (marzo y abril).

3.2.4.3) Diseño experimental.

Para cada uno de los 4 tratamientos con 3 repeticiones se tomaron los valores promedios de cada una de las fechas de determinación del porcentaje de germinación, para analizarlos por medio de un diseño completamente al azar y aplicando la prueba de rango múltiple de Duncan.

3.3) PRUEBAS *in vivo*.

Con el propósito de conocer la viabilidad del polen en un medio natural, se recurrió a la polinización artificial.

3.3.1) Determinación del porcentaje de germinación del polen fresco conservado a 5°C y el almacenado a -5°C.

3.3.1.1) Determinación del porcentaje de germinación *in vivo*, del polen fresco conservado a 5°C.

En la floración, en los meses de marzo y abril, se escogieron 10 árboles de duraznero en base a su uniformidad y vigor, tomando de cada árbol entre 4 y 5 ramas, las cuales fueron marcadas con cintas en las que se registró el nombre de la variedad con las cuales fueron polinizadas.

A los botones floreales se les quitaron los pétalos para poder llevar a cabo la emasculación con la ayuda de pinzas depiladoras, las flores autopolinizadas y/o las visitadas por

insectos se desecharon para que no interfirieran con los resultados.

La polinización manual se realizó colocando sobre la superficie del estilo receptivo el polen fresco conservado a 5°C , haciendo uso de unas pinzas las cuales contenían al polen. Con el propósito de tener repeticiones, la rama se dividió en partes, al igual que las ramas que sirvieron como testigo, donde solo se contó el número de flores polinizadas y posteriormente el número de frutos.

3.3.1.1.1) Toma de datos.

Los datos registrados fueron los siguientes:

a.- Número de flores polinizadas.

b.- Número de frutos amarrados a las 6 u 8 semanas después de realizada la polinización.

El porcentaje de fecundación se calculó a partir de la división de (b) entre (a).

3.3.1.2) Determinación del porcentaje de germinación *in vivo*, del polen almacenado a -5°C.

La polinización y determinación de la viabilidad del polen se realizó en base al porcentaje de fecundación como lo describe el punto (3.3.1).

3.3.2.1) Diseño experimental.

Una vez realizados los puntos (3.3.1.1) y (3.3.1.2) se procedió a compararlos estadísticamente por medio de un diseño completamente al azar.

3.4) COMPARACION DEL PORCENTAJE DE GERMINACION *in vitro* CON EL ENCONTRADO *in vivo*.

Finalmente se realizó una correlación entre los resultados obtenidos *in vitro* y los obtenidos *in vivo*.

4) RESULTADOS

4.1) DETERMINACION DE LA CALIDAD DEL POLEN *in vitro*.

4.1.1) Evaluación de cinco diferentes medios de cultivo para la germinación del polen.

De acuerdo con el análisis estadístico llevado a cabo, se encontró que existe diferencia altamente significativa entre los cinco medios de cultivo evaluados (Cuadro 1).

CUADRO 1. ANALISIS DE VARIANZA ENTRE MEDIOS DE CULTIVO PARA EL POLEN.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	F.T	
Trat.	4	106.5687	26.6421	13.5001**	0.05 — 0.01	3.48 5.99
Error	10	19.7349	1.9735			
Total	14	126.3036				

C.V.= 4.9 %

** Significancia al 1 %

* Significancia al 5 %

Cuando se realizó la separación de medias respecto a los medios de cultivo, se observó que en el medio 3 el porcentaje de germinación del polen fue mayor que los demás y que tanto el medio 2 como el medio 5 se comportaron de una manera similar, siendo estadísticamente superiores a los medios 1 y 4. Se pudo encontrar que en los medios 5, 1 y 4 no hubo

diferencias.

Independientemente del genotipo de duraznero evaluado, el medio 3 siempre reportó los valores más altos en la capacidad de germinación del polen y el tratamiento 4 los valores más bajos. Las diferencias entre el medio 3 y el 2 son mínimas y se pueden considerar como nulas (Cuadro 2).

CUADRO 2. DIFERENCIAS EN LA GERMINACION REGISTRADA ENTRE LOS CINCO MEDIOS DE CULTIVO.

M E D I O	PORCENTAJE DE GERMINACION
3	33.1867 A
2	29.2733 B
5	27.3900 BC
1	26.3533 C
4	25.8233 C

Graficando los porcentajes de germinación de los medios de cultivo, se puede apreciar más claramente las diferencias encontradas entre cada uno de los tratamientos. Observado que los medios 2 y 3 son los que presentan mejores valores de porcentaje de germinación para el polen (Figura 1).

PORCENTAJE DE GERMINACION DE LOS CINCO MEDIOS DE CULTIVO

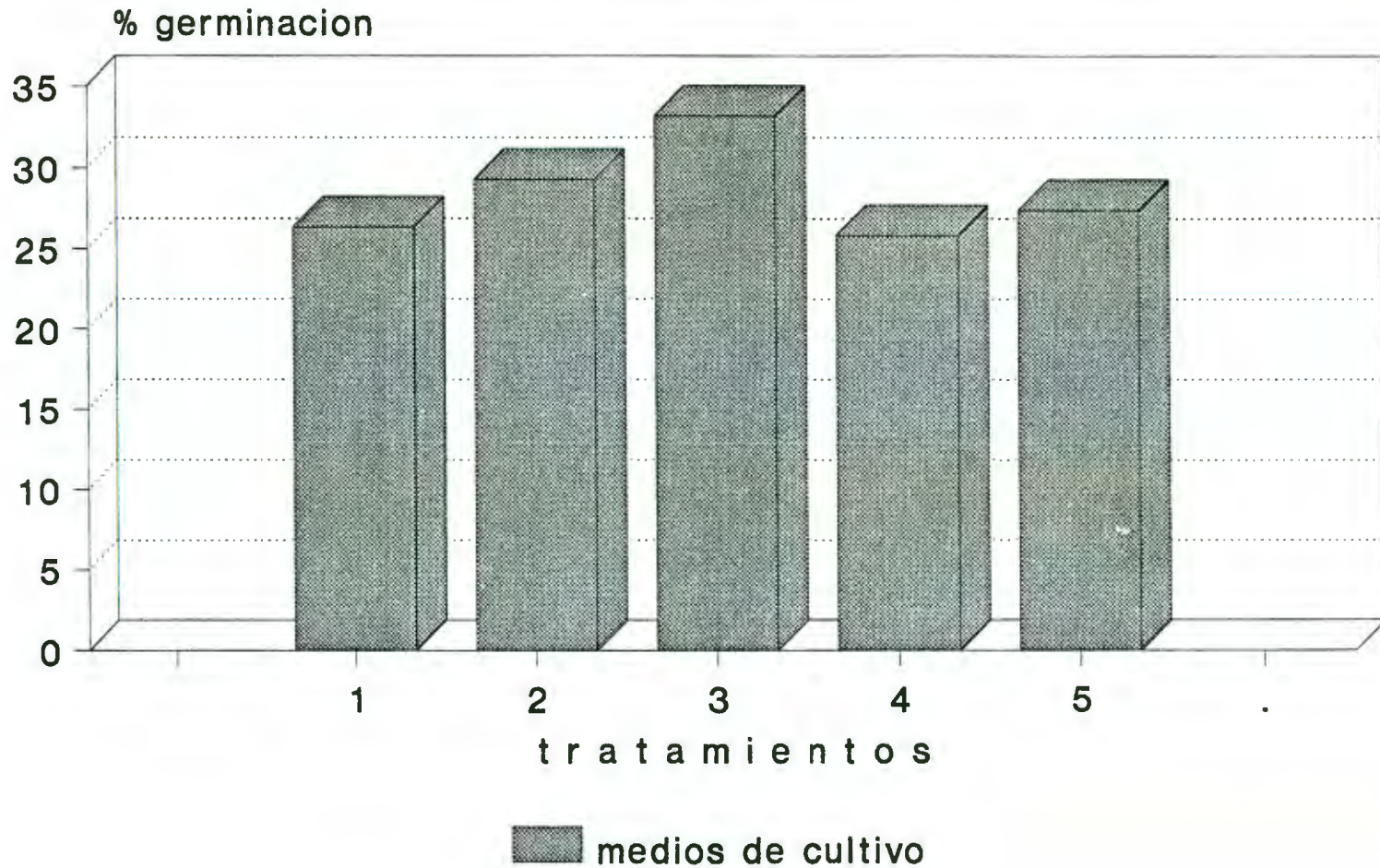


Figura 1

4.1.2) Determinación de la viabilidad del polen en siete especies de *Prunus* y un híbrido interespecífico.

Los análisis de varianza aplicados a siete especies de *Prunus* y de un híbrido interespecífico de almendro X durazno, revelaron que existe diferencia altamente significativa, para cada una de las fechas de evaluación del polen de dichas especies (ver apéndice I).

Cuando se llevo a cabo la separación de medias en cada una de las fechas de evaluación, se observó que al comienzo del experimento (14 marzo) el polen de las especies *Prunus mexicana* mostró ser la de mayor porcentaje de germinación, siendo estadísticamente superior a todas las demás especies. Las especies *Prunus tomentosa*, *P. serotina*, *P. davidiana* y *P. persica* tuvieron un comportamiento similar al igual que el híbrido de almendro X durazno. La especie *Prunus salicina* fue estadísticamente inferior a la especie *Prunus persica* y al híbrido de almendro X durazno. La especie *Prunus armeniaca* fue la que se presentó con el menor porcentaje de germinación (Cuadro 3).

Para mediados del estudio, esto es, a las cinco semanas de iniciado el experimento (23 abril), las especies *Prunus mexicana* y *P. serotina* tuvieron un comportamiento igual, siendo estadísticamente superiores a las demás especies. Las especies *Prunus tomentosa*, *P. salicina*, *P. davidiana* y *P.*

persica se comportaron estadísticamente igual. El híbrido de almendro X durazno tuvo un comportamiento similar a la especie *Prunus armeniaca* (Cuadro 3).

Ya para finales del estudio (23 mayo), la especie *Prunus mexicana* continuó siendo, estadísticamente hablando, la de mayor porcentaje de germinación, mientras que las especies *Prunus tomentosa*, *P. serotina* y *P. persica* fueron estadísticamente iguales. Las especies *Prunus serotina* y *P. davidiana* se comportaron estadísticamente de una manera similar. Y por último la especie *Prunus armeniaca* junto con el híbrido de almendro X durazno fueron estadísticamente iguales e inferiores a todas las demás especies (Cuadro 3).

CUADRO 3. PORCENTAJE DE GERMINACION DE POLEN DE DIFERENTES ESPECIES DE *Prunus* Y DE UN HIBRIDO INTERESPECIFICO.

Especie	14 marzo	30 marzo	10 abril
<i>Prunus mexicana</i>	55.11 A	43.13 A	39.33 A
<i>P. tomentosa</i>	40.19 B	34.30 B	33.79 AB
<i>P. armeniaca</i>	26.87 E	26.28 C	23.37 C
<i>P. salicina</i>	34.75 C	35.34 B	37.93 A
<i>P. serotina</i>	40.51 B	37.54 B	34.65 AB
<i>P. davidiana</i>	41.14 B	31.39 C	29.65 BC
<i>P. persica</i>	42.04 B	36.04 B	35.09 AB
Alm. X durazno	38.98 B	34.75 B	29.66 BC

Especie	23 abril	11 mayo	23 mayo
<i>Prunus mexicana</i>	35.98 A	33.69 A	32.33 A
<i>P. tomentosa</i>	32.18 B	32.09 AB	30.33 B
<i>P. armeniaca</i>	21.79 D	20.99 D	19.33 D
<i>P. salicina</i>	30.68 B	25.89 C	25.31 C
<i>P. serotina</i>	36.82 A	31.00 B	29.38 B
<i>P. davidiana</i>	29.43 B	31.00 C	29.38 C
<i>P. persica</i>	33.74 B	29.59 D	28.72 B
Alm. X durazno	26.08 C	20.46 C	19.60 D

Graficando el porcentaje de germinación de cada especie contra el tiempo, se puede observar que existe un decremento en todos los materiales evaluados conforme transcurre el tiempo, en lo que viabilidad se refiere. Se observa que este decremento es similar y paulatino para todas las especies, no así para el híbrido de almendro X durazno, en donde su viabilidad decrece más rápido (Figura 2).

PORCENTAJE DE GERMINACION DEL POLEN DE ESPECIES DE *PRUNUS*

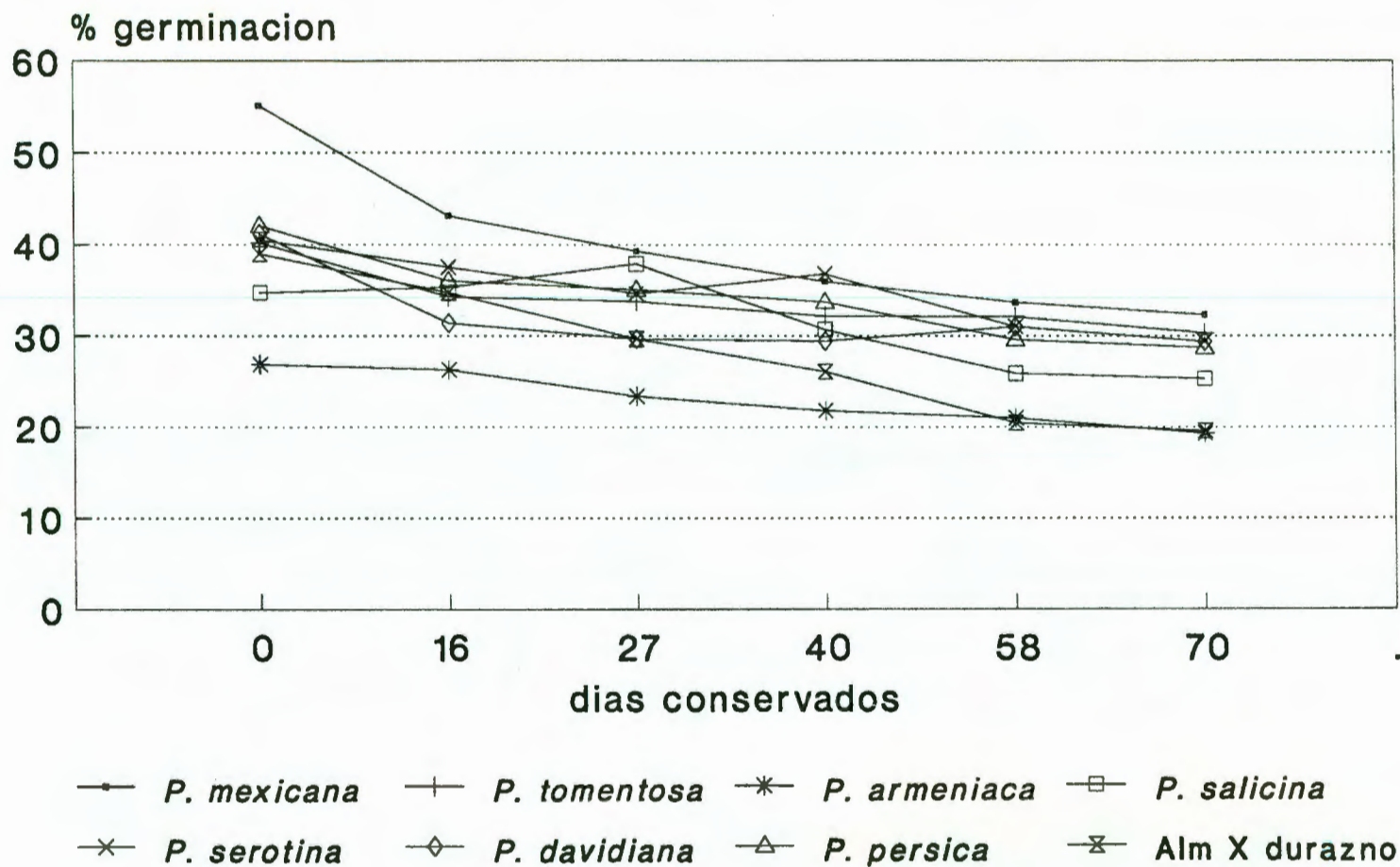


Figura 2

4.1.3) Determinación del potencial gradual de germinación del polen fresco conservado a 5°C.

La Figura 3 muestra como va disminuyendo el porcentaje de germinación del polen conforme transcurre el tiempo, mientras se conserva a una temperatura de 5°C y es utilizado para realizar polinizaciones durante la época de floración.

La tendencia en la capacidad de germinación del polen decrece gradualmente en todas las variedades (Figura 4) , si se calcula una media general. Aunque algunas variedades muestran pequeñas diferencias su comportamiento es similar.

4.1.4) Comparación de la viabilidad del polen fresco almacenado a temperatura sobre cero, con el polen almacenado a temperatura de congelación.

Los análisis estadísticos realizados para este experimento, mostraron que existe diferencia altamente significativa entre las temperaturas de almacenamiento en cada una de las fechas de determinación del porcentaje de germinación del polen de duraznero (ver apéndice I).

Realizándose la separación de medias para cada una de las fechas de determinación de la viabilidad, se encontró que

POTENCIAL GRADUAL DE GERMINACION DEL POLEN FRESCO CONSERVADO A 5°C

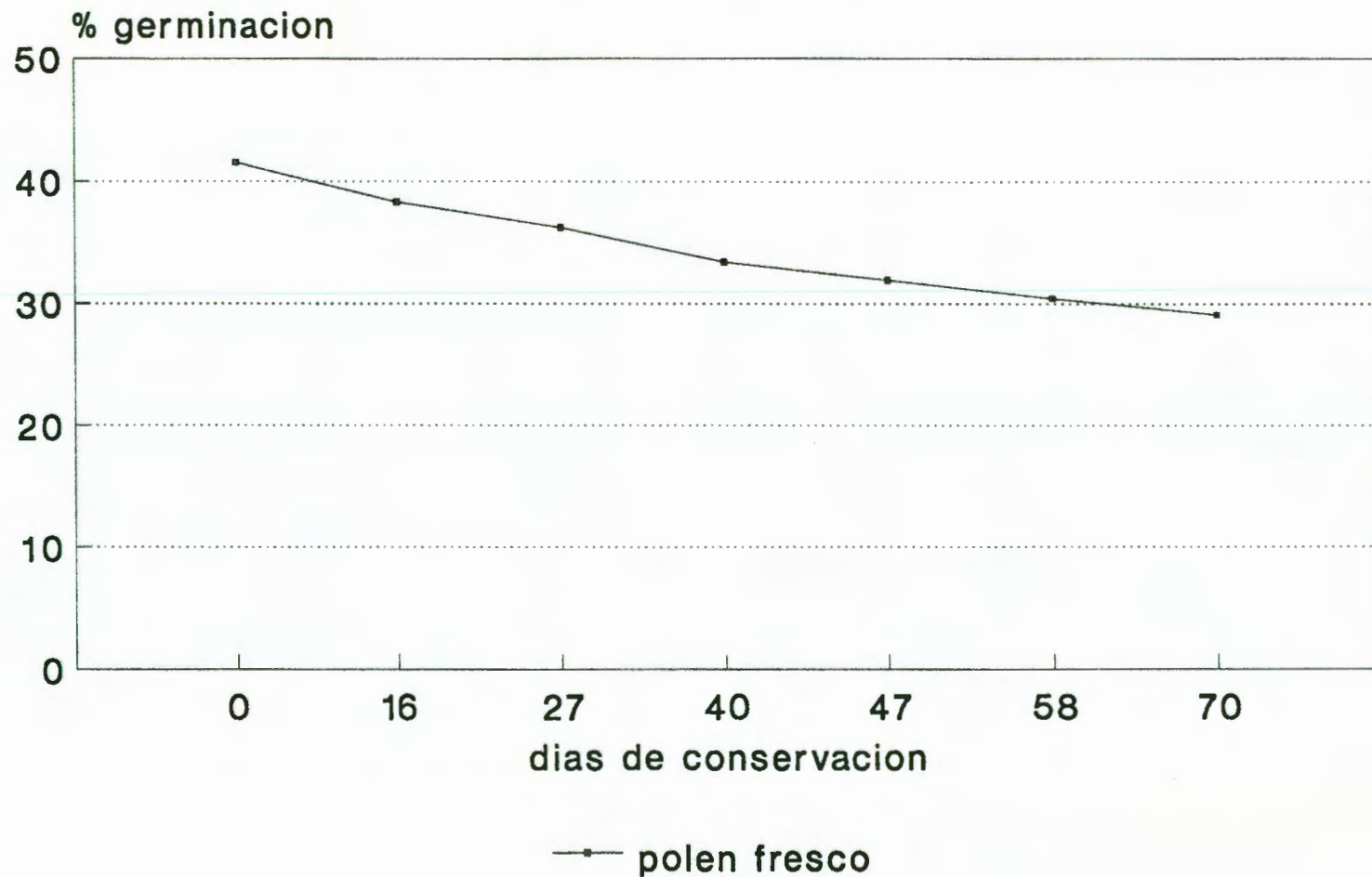


Figura 3

PORCENTAJE DE GERMINACION DEL POLEN FRESCO DE VARIETADES DE DURAZNERO

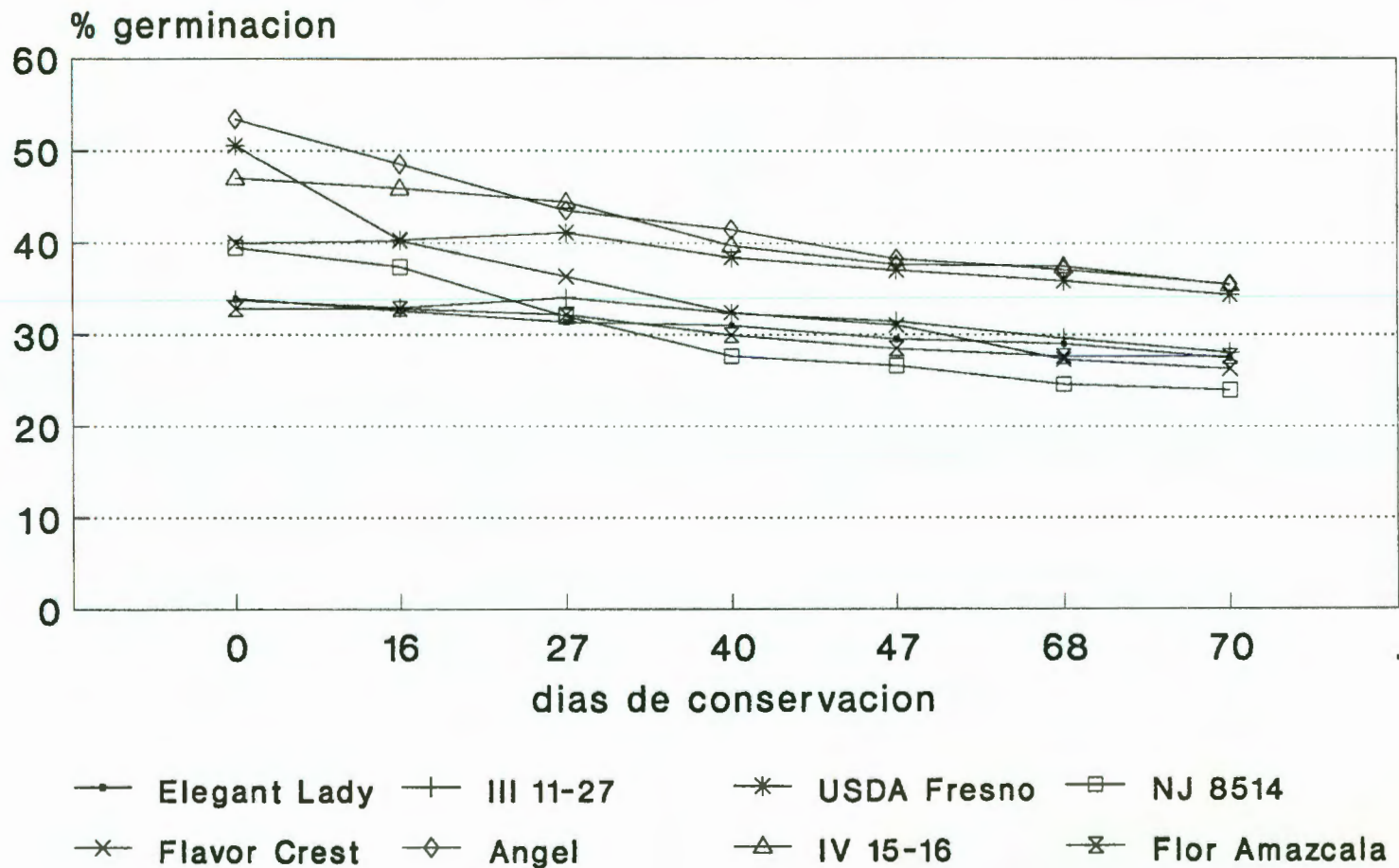


Figura 4

para comienzos del experimento (14 marzo), el polen fresco conservado a 0°C y a 5°C se comportó estadísticamente igual al polen congelado permanentemente a -8°C. El polen congelado a -5°C y luego colocado a +5°C, fue estadísticamente inferior a todos los demás tratamientos (Cuadro 4).

A los 16 días (30 marzo), de comenzado el estudio, el polen congelado desde el año anterior a -8°C se comportó estadísticamente igual que el polen fresco sometido a 5°C y ambos estadísticamente superiores a los conservados a 0°C y a -5°C/+5°C (Cuadro 4).

A los 27 días (10 abril), se registraron las mismas diferencias observadas durante la última lectura, pero para los 47 días de almacenados (30 abril), se empezó a ver con más claridad la influencia de los diferentes métodos de conservación sobre la viabilidad. Así se tiene que, el polen fresco conservado a 5°C continuó siendo estadísticamente superior a los demás tratamientos, seguido por el polen congelado a -8°C. El polen fresco conservado a 0°C fue estadísticamente inferior al polen congelado a -8°C y el polen conservado a -5°C/+5°C mostró la menor capacidad para germinar y se encontró estadísticamente al último (Cuadro 4).

Durante la última etapa del experimento, a los 70 días de iniciado el estudio (27 mayo), se observó que la viabilidad del polen fresco a 5°C fue estadísticamente superior a los

demás tratamientos, seguido por el polen fresco conservado a 0°C, mientras que el polen congelado a -8°C fue estadísticamente inferior al polen fresco conservado a 5°C. Finalmente se puede apreciar que el polen conservado primeramente a -5°C y luego colocadó a 5°C, es estadísticamente inferior a todos los demás tratamientos (Cuadro 4).

CUADRO 4. PORCENTAJE DE GERMINACION DEL POLEN CONSERVADO A TEMPERATURAS SUPERIORES E INFERIORE A 0°C.

P o l e n	14 marzo (o días)	30 marzo (16 días)	10 abril (27 días)
Fresco a 0°C	39.53 A	33.76 B	31.60 B
Fresco a 5°C	41.54 A	38.30 A	36.24 A
* Congelado a -8°C	37.45 A	36.85 A	35.87 A
** Congelado a -5°C/+5°C	28.43 B	14.28 C	11.58 C

P o l e n	23 abril (40 días)	11 mayo (51 días)	23 mayo (70 días)
Fresco a 0°C	30.39 AB	25.86 B	26.54 B
Fresco a 5°C	33.43 A	30.44 A	29.11 A
* Congelado a 8°C	32.71 AB	29.71 A	21.27 C
** Congelado a -5°C/+5°C	11.21 C	5.03 C	4.18 D

* Polen congelado desde el ciclo anterior y extraído a los nueva meses solo para determinar su capacidad de germinación.

** Polen congelado desde el ciclo anterior y luego conservado a 5°C.

Graficando cada uno de los tratamientos en las diferentes fechas de determinación del porcentaje de germinación del polen de duraznero, se puede observar como la viabilidad del polen del ciclo anterior conservado a -5°C disminuye rápidamente al ser colocado a una temperatura de 5°C , pero si el polen es congelado permanentemente, es posible conservar su viabilidad durante más tiempo. La viabilidad del polen a 5°C también se ve afectada en su capacidad germinativa, solo que esta decrece más lentamente al igual que el polen conservado a 0°C (Figura 5).

PORCENTAJE DE GERMINACION DEL POLEN CONSERVADO A CUATRO TEMPERATURAS

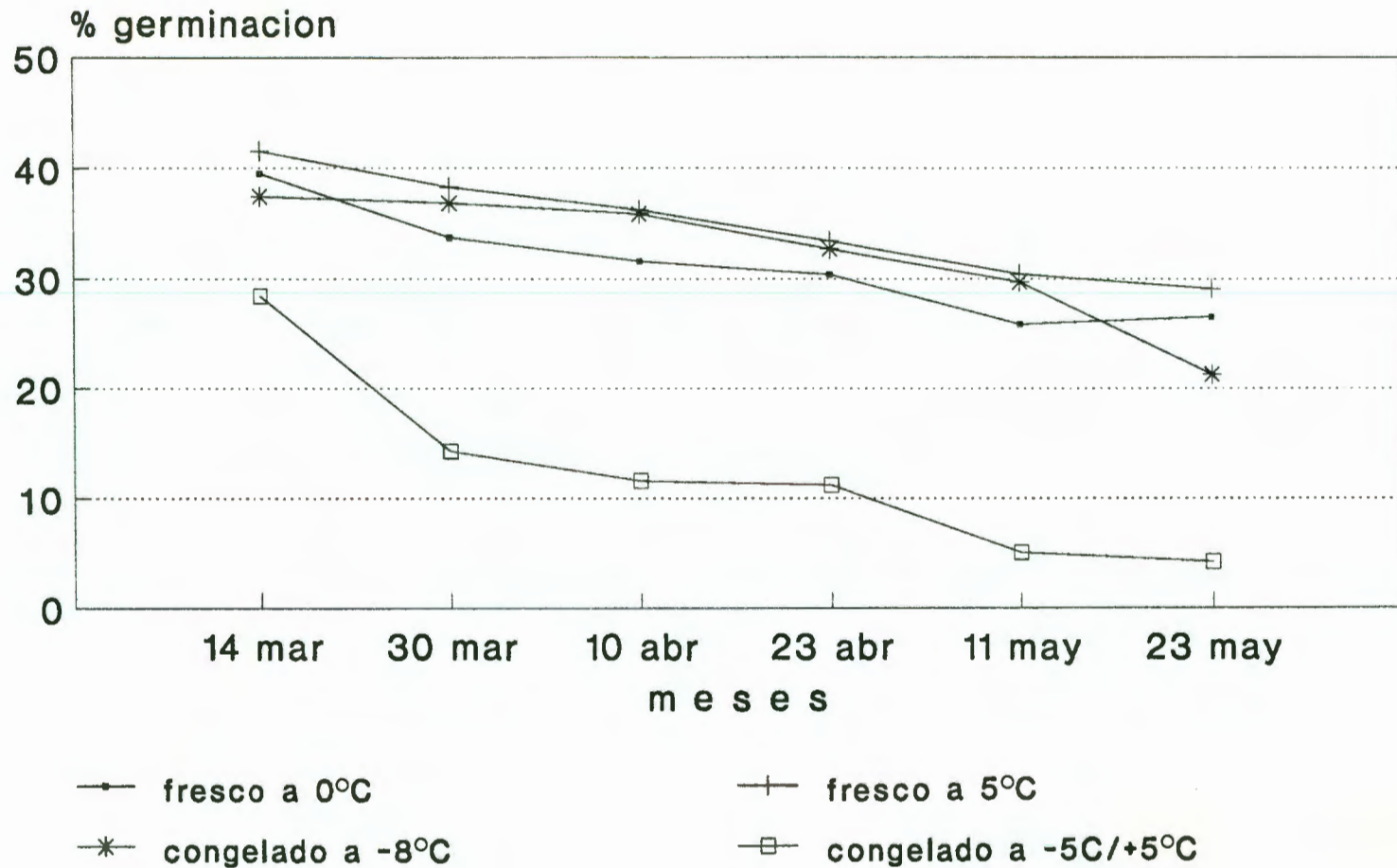


Figura 5

4.2) DETERMINACION DE LA CALIDAD DEL POLEN DE DURAZNERO EN
BASE A PRUEBAS *in vivo*.

El análisis estadístico aplicado a los datos encontrados, reveló que no existe diferencia estadística entre los tratamientos (Cuadro 5).

CUADRO 5. ANALISIS DE VARIANZA CORRESPONDIENTE A LAS PRUEBAS *in vivo*.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M	F.C.	F.T.	
					0.05	0.01
Trat.	3	321.0607	107.02	0.7351	2.96	4.60
Error	27	3930.6232	145.58			
Total	30	4251.6839				

C.V.= 31.1799 %

Tanto el polen congelado como el polen fresco presentaron niveles muy semejantes de fecundación (Cuadro 6).

CUADRO 6. PORCENTAJES DE GERMINACION DEL POLEN CONSERVADO A TEMPERATURAS SUPERIOS E INFERIORES A 0°C.

P o l e n	Asentamiento de fruta
Congelado a -8°C	44.94
Congelado a -5°C/+5° C	35.66
Fresco a 5°C	36.82
Testigo (polinización libre)	38.46

CALIDAD DEL POLEN DE DURAZNERO EN BASE A PRUEBAS *IN VIVO*

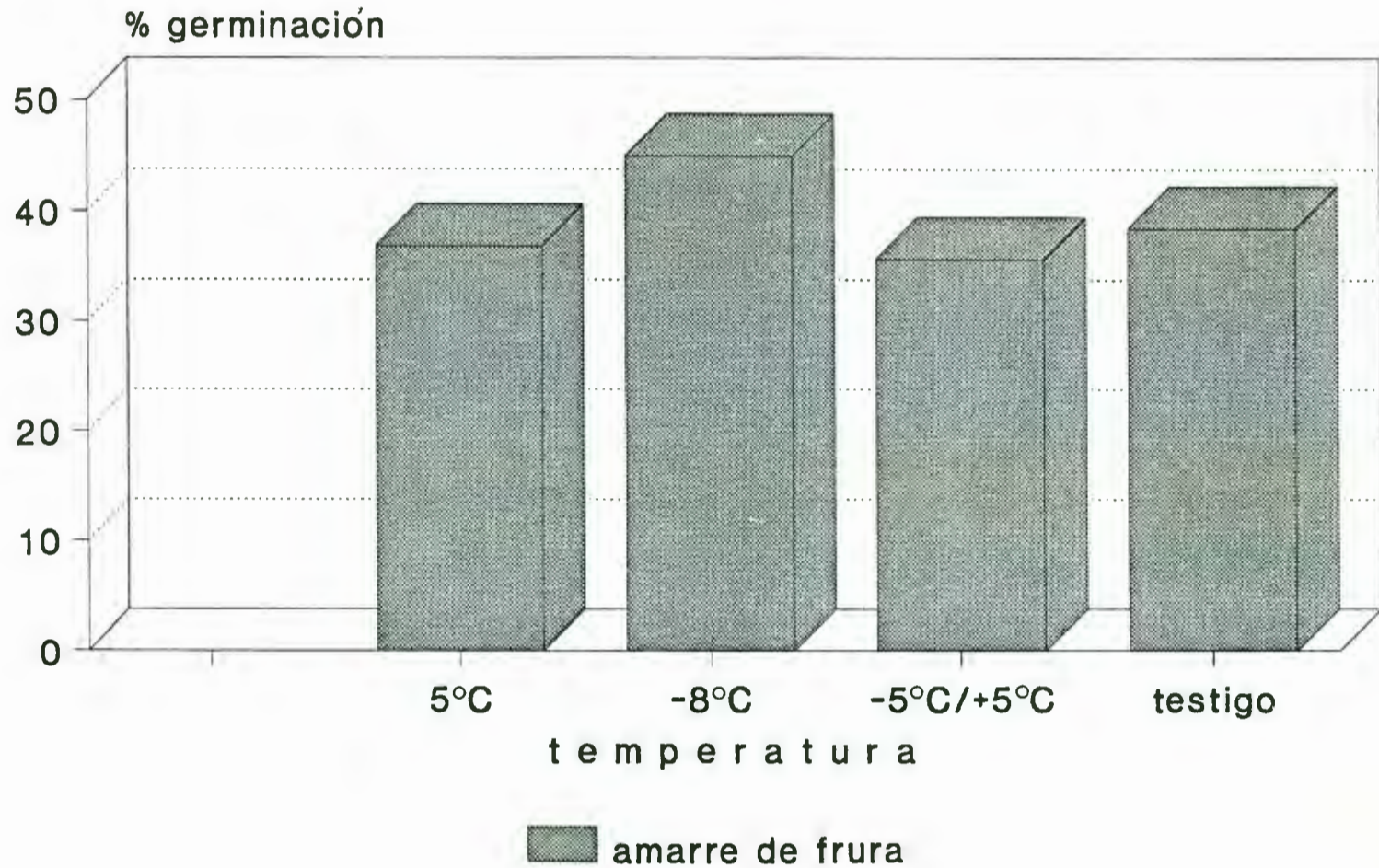


Figura 6

Estos resultados son alagadores ya que permiten al mejorador de *Prunus* el intercambio y la utilización de una base genética más amplia para alcanzar sus objetivos.

4.3) CORRELACION ENTRE EL POLEN ESTUDIADO *in vitro* Y EL ESTUDIADO *in vivo*.

El Cuadro 7 muestra la correlación encontrada entre el polen estudiado *in vitro* y el polen estudiado *in vivo*, en donde se encontró un valor de correlación positivo bajo.

CUADRO 7. VALORES ENCONTRADOS EN LA CORRELACION ENTRE LOS ESTUDIOS *in vitro* E *in vivo*.

		<i>I n v i t r o</i>	
		Congelado	Fresco
<i>I n v i v o</i>	Congelado	0.347	-----
	Fresco	-----	0.193

5) D I S C U S I O N E S

Se puede reconocer que la germinación del polen en medio artificial no puede ser la misma como en la superficie del estigma, y que los requerimientos externos como la temperatura, luz, humedad relativa, la cantidad y la calidad de los nutrientes pueden ser diferentes para cada especie. El trabajo realizado dentro de las pruebas *in vitro* proporcionó la información requerida para los fines prácticos que demanda un programa de mejoramiento genético, en donde solo se desea saber si el polen es utilizable aun en base a su capacidad germinativa.

Dentro de las evaluaciones realizadas en los cinco medios de cultivo propuestos para la germinación del polen, se encontró, que independientemente del genotipo de duraznero evaluado, el medio 3 reportó siempre los valores más altos en la capacidad de germinación del polen y estos es debido a que dichos medios contiene los requerimientos necesarios, como son el boro, calcio y sacarosa. Los resultados encontrados nos muestran que también se puede emplear el medio 2 para conocer la capacidad germinativa del polen, pues las diferencias entre ambos medios es poca, encontrandose que la diferencia entre ellos seria el costo, siendo el medio 2 el mas económico. Al igual que el medio 2, el medio 5 se puede usar para dichas pruebas, solo que este medios no se empleo

debido a que se requieren para su preparación cinco nutrientes que elevarían su costo. Los medios 1 y 4 no se emplearon pues estos reportaron los más bajos porcentajes de germinación del polen, además de que dentro de los estudios realizados algunos genotipos de duraznero fueron inhibidos, pensándose que se debe a la ausencia de boro en sus formulaciones.

En los que respecta a la determinación de la viabilidad de siete especies de *Prunus*, así como de un híbrido interespecífico, se encontró que en la primera fecha de observación, el polen de la especie *Prunus mexicana* mostró ser la especie con mayor capacidad de germinación, debido quizá a que es una especie silvestre menos sensible que las demás a los cambios que representa el medio de cultivo artificial. Las demás especies se comportaron de una manera muy parecida, pues a los 55 días de iniciado el estudio se observaron solo pequeñas diferencias, pero la tendencia general fue siempre la misma y conservaron su viabilidad medianamente alta, no así el híbrido de almendro X durazno que mostró una pérdida más drástica. Durante la etapa intermedia del estudio, las especies *Prunus mexicana* y *P. serotina* presentaron los porcentajes más altos de germinación, mientras que las especies *Prunus persica*, *P. tomentosa*, *P. salicina* y *P. davidiana* constituyeron un grupo intermedio relativamente compacto, encontrándose que había una pérdida de un 23.37 % en el promedio de la viabilidad de

dichas especies, mientras que el híbrido de almendro X durazno perdió un 33 % de su germinación, dicho decremento se debe quizá a su origen interespecífico como se observa en otras especies de plantas y animales.

Durante la última fecha de evaluación se registraron aún diferencias significativas entre especies, observando que la temperatura usada para conservar este polen (0°C), fue satisfactoria, especialmente si solo se piensa durante un período corto, como por ejemplo : durante la época de floración, conservandose todavía una viabilidad aceptable como para poder llevar a cabo la fecundación. Solamente el híbrido de almendro X durazno perdió drásticamente su viabilidad siendo esta del 49.7 %.

Como era de esperarse, la capacidad de germinación va disminuyendo conforme transcurre el tiempo, agudizandose si la temperatura es mayor debido a que una baja temperatura retarda la actividad citoplasmática. También se encontró que el polen fresco perdió solo un 29.92 % de su viabilidad, ya que la utilización de bolsas y frascos de plástico excluyen la humedad relativa existente en el refrigerador y conserva el polen relativamente seco, con lo cual se inhibe su actividad fisiológica y se conserva su capacidad germinativa.

La comparación del polen a diferentes temperaturas mostró que una temperatura de congelación (inferior a -5°C),

mantiene más estable la viabilidad. Si la temperatura a la cual se almacenó el polen se incrementa se reduce gradualmente la viabilidad, a demás si el cambio de temperatura es muy drástico se puede provocar el rompimiento de las células como en el caso de los granos de polen sometidos primeramente a una temperatura de -5°C y luego colocados a una temperatura de $+5^{\circ}\text{C}$, encontrandose que a pesar de que su viabilidad durante su almacenamiento fue aceptable, cuando se colocó a $+5^{\circ}\text{C}$, esta decreció rápidamente hasta perdelo completamente. Por otra parte la viabilidad del polen almacenado de manera permanente en congelación decreció de una manera más tenue y gradual, conservado su capacidad de germinación y de fecundar con más probabilidad al óvulo. Este decremento paulatino bajo condiciones de congelación, es debido a que la actividad citoplasmática se reduce al mínimo.

El polen fresco sometido a una temperatura de 5°C , mostró siempre valores más altos en su porcentaje de germinación, pero la temperatura a la cual fue sometido no fue suficientemente adecuada como para mantenerlo viable por un tiempo más largo, por lo cual se puede usar durante cuatro o cinco semanas, que es precisamente el tiempo necesario para realizar la polinización artificial.

Se puede decir entonces que, el polen congelado durante un año se encuentra en desventaja con lo demás tratamientos cuando este es descongelado bruscamente. Sin embargo, el

polen congelado permanentemente durante 9 meses mantiene una viabilidad comparable a la del polen fresco conservado a 5°C y mayor a la del polen conservado a 0°C.

En lo que respecta a las determinaciones de la calidad del polen en base a pruebas *in viva*, se encontró que tanto el polen congelado como el polen fresco, fueron capaces de llevar a cabo la fecundación a pesar de que en las pruebas *in vitro* se observó que eran los que poseían mayores porcentajes de germinación, mostrandonos esto que el porcentaje de germinación encontrado *in vitro* solo nos muestra si el polen es viable o no, mientras que las pruebas *in viva* son definitivas, y que un porcentaje de germinación bajo *in vitro* puede también realizar una buena fecundación, claro que si el porcentaje de germinación encontrado *in vitro* es alto, la probabilidad de fecundación *in viva* será mayor. Además de que en el estilo las condiciones tanto de luz, temperatura y humedad relativa, así como los azúcares y nutrientes son más adecuados para la germinación del polen que cualquier medio de cultivo artificial.

6) C O N C L U S I O N E S

1.- El medio de cultivo que registró mayor porcentaje de germinación del polen fue el 3, pero las diferencias aunque significativas son mínimas por lo que podría usarse el medio 2, debido a que es más económico y fácil de preparar, sabiendo de antemano que reportó valores ligeramente inferiores a los reales, por lo que puede considerarse como más exigente.

2.- El polen de la especie *Prunus mexicana* permaneció siempre con el más alto valor de porcentaje, sin embargo todas las especies evaluadas tuvieron un comportamiento parecido, decreciendo de porcentaje de germinación paulativamente cuando es colocado a una temperatura de 0°C.

3.- La viabilidad del híbrido almendro X durazno decreció muy rápidamente si se conserva a una temperatura de 0°C.

4.- La viabilidad del polen fresco disminuye rápidamente mientras se utiliza durante el período de floración.

5.- El polen de duraznero congelado desde el ciclo anterior a -5°C y luego a una temperatura de +5°C, se afecta en su viabilidad, perdiendola rapidamente (a las 2 ó 3 semanas).

6.- La viabilidad del polen de duraznero se puede conservar en buenas condiciones dentro de bolsas y tubos de plástico en un refrigerador de uso doméstico y con una temperatura inferior a -5°C durante un año.

7.- No existe diferencia de porcentaje de germinación del polen congelado con el polen fresco y el testigo en lo que respecta a las pruebas *in vivo* (fecundación).

8.- No existe correlación entre los resultados de germinación obtenidos *in vitro* y el polen estudiado *in vivo*, por lo que se puede decir que cuando se trata de realizar hibridaciones, mientras el polen conserve una capacidad de germinación inferior al 15 % no importa si es congelado, pues posee una eficiencia similar a la del polen fresco.

7) BIBLIOGRAFIA

- 1.-Ascher, P.D. y Peloquin, S.J. 1968. "Pollen tube growth and incompatibility following intra and inter-specific pollination in *Lilium lanfflorum*". Amer. Jour. of Bot. 55: 1230-1234.
- 2.- Batjer, L.P. y Thompson, A.H. 1949. Effect of boric acid spray applied during bloom upon the set of pear fruts. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 53: 141-142.
- 3.-Becker, C.L. 1932. Studies of pollen germination in certain species and interspecific hybrids of *Prunus*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. Vol 29: 122-126.
- 4.-Blakeslee, A.F. 1945. Removing some of the barriers of crossability in plants. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. Vol. 89: 561-574.
- 5.-Bradford, F.C. y Bradford, R.H. 1946. Pollination of native crab apples od the norteastern United States. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 54: 133-136.
- 6.- Bredermann, G., Gaber, K. Harteck, P. y Suhr, K.A. 1947. Die temperatuabhängigkeit den lebensdauer von Blütenpollen. Naturwiss 34: 279-280.
- 7.- Brewbaker, J.K. y Kwack, B.H. 1963. The essencial role of calcium ion pollen germination and pollen tube growth. Amer. Jour. of Bot. 50(9): 859-865.
- 8.-Brink, R.A. 1924. The physiology of pollen and the requerements for growth. Amer. Jour. of Bot. 11: 218-228.
- 9.-Bullock, R.H. y Overley, F.L. 1946. Handling and application of pollen to fruit tree. Amer. Soc. Hort. Sci. 54: 125-132.
- 10.-Bünemann, G. y Lee, C.L. 1980. Biologie de la mise a fruits des varietés de *Prunus* Bleunes et ses consequences pour une culture renteble dans le nord de l'Allemagne. Le fruit belge, bolletin trimestriel,organe des lingues pomologiques wuallonnes. 390: 107-113.
- 11.-Crawford, C.L. 1937. Effectiveness of data pollen following cold storage. Proce. Amer. Soc. Hort. Sci. 35: 91-95.

- 12.- Gauch, H.G. y Duggar, W.H.Jr. 1953. The role of boron in the translocation of sucrose. *Plant physiol.* 28: 457-466.
- 13.- Gollmick, F. 1942. Über die Lebensdauer des Rebenspollen. *Ang. Bot.* 24: 221-223.
- 14.- Gomez, A. y Gomez, A.A. 1987. Statistical procedores for agricultural reseach. Willey 357-207.
- 15.- Hedrick, U.P., Howe, G.H., Taylor, C.B. y Tubergen, C.B. 1917. The Peaches of New York. State of New York; Department of Agriculture, Albany. J.B. Lyon Company Printers.
- 16.- Heslop-Harrison. 1971. Pollen: Development and physiology. London. Butterworths 131-139, 177-200.
- 17.- Holman, R.M. y Brubaker, F. 1926. On the longevity of pollen. *Amer. Jour. of Bot.* 13: 179-204.
- 18.- Johri, B.M. y Vasil, I.K. 1960. The pollen and pollen tube. *Ergeb. Biolo.* 23: 1-13.
- 19.- King, J.R. y Hesse, C.D. 1938. Pollen longevity studies with deciduous fruits. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 36: 310-313.
- 20.- Kubo, A. 1955. The unstable germination ability of pollen grains of *Cosmos bipinnatus*. *Amer. Jour. of Bot.* 6: 237-250.
- 21.- Kwack, B.H. y Kim, J.H. 1967. Effects of calcium ion and the protective action on survival and growth inhibition of pollen. *Plant physiologia.* 20: 73-82.
- 22.- Lichte, H.f. 1957. Über die physiologie von Angiospermen pollen und ihre Bedeutung für die Pflanzensuchtung. *Ang. Bot.* 31: 1-28.
- 23.- Little, M.Y. y Hills, F.J. 1976. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. Trillas, 139.
- 24.- Lizai-Long. 1984. Peach and breeding in China. *Hort. Sci.* vol 19(3): 348-351.
- 25.- Miller, P.J., Parfitt, D. y Weinbaum, S.A. 1989. Out crossing in peach. *Hort. Sci.* 24(2): 359-360.
- 26.- Nang-Chang, W. y Struckmeyer, E. 1975. The influence of temperature and relative humidity on Onion pollen germination. *Hort. Sci.* vol. 10(2): 162-163.

- 27.- Nebel, B.R. 1939. Longevity of pollen in apple, pear, plum, peach, apricot and sour cherry. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 37: 130-132.
- 28.- O'Kelley, J.C. 1955. External carbohydrates in growth and respiration of pollen tubes *in vitro*. Amer. Jour. of Bot. 42: 322-326.
- 29.- O'Kelly, J.C. 1957. Boron effects on growth oxygen uptake and sugar absorption by germinating pollen. Amer. Jour. of Bot. 44(3): 239-244.
- 30.- Olmo, H.P. 1942. Storage of grape pollen. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 41: 219-224.
- 31.- Overley, F.L. y Bullock, R.M. 1947. Pollen diluents and applications of pollen to tree fruits. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 40: 163-189.
- 32.- Parfitt, D.E. y Geneshan, S. 1989. Comparison of procedures for estimating viability of *Prunus* pollen. Hort. Sci. 24(2): 354-356.
- 33.- Pérez, G.S. y Moore, J.N. 1985. Prezygotic endogenous barriers to interspecific Hybridization in *Prunus*. Hort. Sci. 110(2): 267-273.
- 34.- Pfundt, M. 1910. Der Einfluss der Luftfeuchtigkeit auf die Lebensdauer des Blütenstaubes. Jahrb. Wiss. Bot. 47: 1-40.
- 35.- Roberts, R.H. y Struckmeyer, B. E. 1948. Notes on pollination with special reference to *Delicious* and *Winesap*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 51: 54-61.
- 36.- Salazar, E. 1977. Normas técnicas de producción del duraznero. Conafrut, S.A.R.H.
- 37.- Spurr, A.R. 1957. The effect of boron on cell wall structure in celery. Amer. Jour. of Bot. 44: 637-650.
- 38.- Stanley, R.G. y Linskens, H.F. 1974. Pollen biology biochemistry management. Springer-Verlan, New York. Heidelberg Berlin, 39-86.
- 39.- Stone, C.L., Jones, L.E. y Whitehouse, W.E. 1943. Longevity of pistache pollen under various conditions of storage. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 42: 305-314.

- 40.- Thompson, M.M. y Lui, L.J. 1972. Pollination and erratic bearing in "Italian" Prune. Amer. Soc. Hort. Sci. 97(4): 489-491.
- 41.- Smith-Huerta, N.L. and Vaser, F.C. 1984. Pollen longevity and stigma pre-emption in *Clarkia*. Amer. Jour. of Bot. 71(9): 1183-1191.
- 42.- Vasil, I.K. 1958 a .The cultivation of excised anthers and the culture and storage of pollen grain. Ph. D. Thesis, Delhi Univ. India.
- 43.- Vasil, I.K. 1960 b .Studies on pollen germination of certain curcubitaceae. Amer. Jour. of Bot. 47(3): 239-247.
- 44.- Visser, T. 1951. Bloemblogie en Krvisingstechnick bij appel en peer. Meded. Dir. Tuinb. 14: 707-726.
- 45 - Weinbaum, S.A. y Kester, D.E. 1986. Pollen retention following natural self pollination in peach, almond and peach X almond hybrids. Euphytica 35: 193-200.

B) A P E N D I C E

CUADRO 1 A. Análisis de varianza correspondiente a la primera fechas de evaluación del polen de 8 especies de *Prunus* y de un híbrido interespecífico.

14 marzo)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	8	1496.2098	187.026	62.254**	2.04	3.71
Error	18	54.0768	3.004			
Total	26	1350.2865				

C.V.= 4.5 %

** significancia al 1%

* significancia al 5%

CUADRO 2A. Análisis de varianza correspondiente a la evaluación del polen de ocho especies de *Prunus* y de un híbrido interespecífico, a los 16 días de almacenado.

30 marzo)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	8	1122.5626	140.320	20.666**	2.04	3.71
Error	18	122.2184	6.789			
Total	26	1244.7810				

C.V.= 7.3%

** significancia al 1 %

* significancia al 5 %

CUADRO 3. Análisis de varianza correspondiente a las evaluaciones del polen de 8 especies de *Prunus* y de un híbrido interespecífico a los 27 días de almacenado.

10 abril)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	8	1033.4510	129.18	9.427**	2.04	3.71
Error	18	246.6660	13.704			
Total	26	1280.1165				

C.V.= 11.7%

** Significancia al 1 %

* Significancia al 5 %

CUADRO 4. Análisis de varianza correspondiente a la evaluación del polen de 8 especies de *Prunus* y de un híbrido interespecífico a los 40 días de almacenado.

23 de abril)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	8	929.069	116.134	29.75**	2.04	3.71
Error	18	70.2688	3.904			
Total	26	999.3387				

C.V.= 6.3 %

** Significancia al 1 %

* significancia al 5 %

CUADRO 5. Análisis de varianza correspondiente a la evaluación del polen de 8 especies de *Prunus* y de un híbrido interespecífico a los 47 días de almacenado.

30 abril)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	8	869.2831	108.6600	113.887**	2.04	3.71
Error	18	17.1755	0.9542			
Total	26	886.4586				

C.V.= 3.4 %

** Significancia al 1 %

* significancia al 5 %

CUADRO 6. Análisis de varianza correspondiente a la evaluación del polen de 8 especies de *Prunus* y de un híbrido interespecífico a los 58 días de almacenado.

11 mayo)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	8	834.602	104.32.52	119.862**	2.04	3.71
Error	18	15.6668	0.8703			
Total	26	850.2687				

C.V.= 3.24 %

** Significancia al 1 %

* Significancia al 5 %

CUADRO 7 . Análisis de varianza correspondiente a la evaluación del polen de 8 especies de *Prunus* y de un híbrido interespecífico a los 70 días de almacenado.

23 de mayo)

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	8	783.017	97.877	146.364**	2.04	3.71
Error	18	12.037	0.6687			
Total	26	705.054				

C.V. = 2.95 %

** Significancia al 1 %

* significancia al 5 %

CUADRO 8. Medias de las diferentes fechas de determinación del polen de nueve variedades de duraznero, almacenadas durante 70 días y a una temperatura de 5°C.

DIAS	% GERMINACION
0 (14 marzo)	41.54
16 días(30 marzo)	38.30
27 días(10 abril)	36.24
40 días(23 abril)	33.43
47 días(30 abril)	31.96
58 días(11 mayo)	30.44
70 días(23 mayo)	29.11

CUADRO 9. Análisis de varianza correspondiente a las cuatro diferentes temperaturas a que fue sometido el polen de duraznero al inicio del experimento.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	3	301.4009	100.467	19.54**	4.07	7.59
Error	8	41.1394	5.142			
Total	11	342.5403				

C.V.= 6.1728 %

** Significancia al 1 %

* significancia al 5 %

CUADRO 10. Análisis de varianza correspondiente a las cuatro diferentes temperaturas a que fue sometido el polen de duraznero a los 16 días de almacenado.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	3	1123.5117	374.504	182.515**	4.07	7.59
Error	8	16.4153	2.052			
Total	11	1139.9270				

C.V.= 4.65

** Significancia al 1 %

* Significancia al 5 %

CUADRO 11. Análisis de varianza correspondiente a las cuatro diferentes temperaturas a que fue sometido el polen de duraznero a los 27 días de almacenado.

F.V.	G.L	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	3	1229.1702	409.72	266.208**	4.07	7.59
Error	8	12.3128	1.539			
Total	11	1241.413				

C.V.= 4.30 %

** Significancia al 1 %

* Significancia al 5 %

CUADRO 12. Análisis de varianza correspondiente a las cuatro diferentes temperaturas a que fue sometido el polen de duraznero a los 40 días de almacenado.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	3	1075.51	358.50	114.41**	4.07	7.59
Error	8	25.065	3.13			
Total	11	100.574				

C.V.= 6.4717 %

** Significancia al 1 %

* Significancia al 5 %

CUADRO 13. Análisis de varianza correspondiente a las cuatro diferentes temperaturas a que fue sometido el polen de duraznero a los 47 días de almacenado.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	3	1184.967	394.989	1904**	4.07	7.59
Error	8	1.6595	0.207			
Total	11	1186.6265				

C.V.= 1.8398 %

** Significancia al 1 %

* Significancia al 5 %

CUADRO 14. Análisis de varianza correspondiente a las cuatro diferentes temperaturas a que fue sometido el polen de duraznero a los 51 días almacenado.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	3	1296.299	432.09	624.29**	4.07	7.59
Error	8	5.537	0.692			
Total	11	1301.836				

C.V.= 3.6551

** Significancia al 1 %

* Significancia al 5 %

CUADRO 15 . Análisis de varianza correspondiente a las cuatro diferentes temperaturas a que fue sometido el polen de duraznero a los 70 días de almacenado.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc	Ft	
					0.05	0.01
Trats.	3	1132.256	377.42	2288.78**	4.07	7.59
Error	8	1.3192	0.1649			
Total	11	1133.575				

C.V. = 2.003

** Significancia al 1 %

* Significancia al 5 %