

POLINIZACIÓN CONTROLADA DEL AGUAJE *Mauritia flexuosa* L.f., APLICANDO DIFERENTES TIPOS DE CONSERVACIÓN DE POLEN, Y FRECUENCIAS DE APLICACIÓN

Luis FREITAS ALVARADO¹, Juan ALVARADO ALVARADO², Joel VASQUEZ BARDALES³, Dennis DEL CASTILLO TORRES¹

- 1 Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), Programa de Investigación en Manejo Integral del Bosque y Servicios Ambientales (PROBOSQUES). Iquitos, Perú, lfreitas@iiap.org.pe
- 2 Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP), Facultad de Agronomía, Iquitos, Perú, juanluisalvarado2@yahoo.es
- 3 Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), Programa de Investigación en Biodiversidad Amazónica (PIBA), Iquitos, Perú.

RESUMEN

El aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f.), es una palmera de gran importancia socioeconómica en la Amazonía peruana. La especie presenta una gran variabilidad de características de frutos y altura de plantas; características que tienen que ser aprovechadas para realizar cruzamientos orientados a obtener híbridos selectos para el establecimiento de plantaciones comerciales. En el estudio, se realizaron pruebas de polinización controlada aplicando el Diseño Irrestrictamente al Azar, mediante un arreglo trifactorial con tres repeticiones y ocho tratamientos. Se analizaron las interacciones entre los factores tipo de conservación de polen (8 °C y -8 °C), frecuencia de aplicación de polen (1 y 2 aplicaciones) y períodos de desembolso (7 y 14 días), con el fin de determinar la influencia en la producción de frutos de aguaje. La viabilidad del polen conservado a 8 °C y -8 °C, mantienen niveles de viabilidad superiores a 40% hasta los 30 días. Los resultados del análisis de variancia para el porcentaje de frutos iniciales, resultó altamente significativo para el factor período de desembolso, obteniendo los mejores resultados al desembolsar las raquillas después de 7 días de aplicada la polinización. Así mismo, el análisis de variancia del porcentaje final de frutos, resultó significativo para el factor frecuencia de aplicación del polen, donde los mejores resultados se obtienen al aplicar la dosis en dos días consecutivos. El análisis de la prueba de Duncan (0.05%) referida al porcentaje de frutos finales, muestra que los tratamientos no difieren estadísticamente, los ocho tratamientos presentaron comportamiento homogéneo.

PALABRAS CLAVE: *Mauritia flexuosa*, aguaje, polen, polinización controlada.

CONTROLLED POLLINATIONS IN *Mauritia flexuosa* L.f., USING TWO TYPES OF POLLEN CONSERVATION, TWO APPLICATION FREQUENCIES AND TWO DISBURSEMENT PERIODS

ABSTRACT

The aguaje (*Mauritia flexuosa* L.f.) is a major socioeconomic importance palm in the Peruvian Amazon. The species is very variable at the level of types of fruit and plant height; these characteristics have to be exploited in order to make hybrid crosses designed to obtain selected for the establishment of commercial plantations. In the study, tests were conducted using controlled pollination unrestricted random design, using a three-factor arrangement with three replications and eight treatments. We analyzed the interactions between the pollen type of conservation (8 °C and -8 °C), frequency of application of pollen (1 and 2 applications) and disbursement periods (7 and 14 days) in order to determine the influence on fruit production of aguaje. The viability of pollen stored at 8 °C and -8 °C, maintain viability levels above 40% up to 30 days. The results of analysis of variance for the percentage of initial fruits, resulted highly significant factor for the disbursement period, the best results to disburse the rachilla after 7 days of pollination. Similarly, analysis of variance of final percentage of fruit factor was significant for the frequency of pollen application, where the best results are obtained by applying the dose in two consecutive days. The analysis of the Duncan test (5%) referred to the percentage of final fruits, showed that the treatments did not differ statistically, the eight treatments showed homogeneous behavior.

KEYWORDS: *Mauritia flexuosa*, aguaje, pollen, pollination controlled

INTRODUCCIÓN

En la selva baja de la Amazonía peruana el “aguaje” (*Mauritia flexuosa* L. f.) constituye un producto forestal no maderable importante, sus frutos tienen gran demanda en el mercado local y un valor potencial para la exportación de productos con valor agregado debido a sus propiedades nutraceuticas por tener alto contenido de vitaminas A, C y E, (Vásquez, 2010).

El aguaje presenta una gran variabilidad, existen en la naturaleza plantas con características de precocidad y escaso desarrollo del estúpido (Delgado *et al.*, 2006), así mismo; frutos con diferente color y sabor de pulpa (Rojas, 2000) y características químicas para el desarrollo de productos alimenticios y cosméticos (Vásquez, 2010; Del Castillo *et al.*, 2006). Esta variabilidad tiene que ser aprovechada con el fin de desarrollar la producción comercial con tipos de aguaje selectos, para ello es necesario contar con semilla seleccionada con alto valor genético; en este proceso es necesario desarrollar técnicas orientadas al mejoramiento genético de esta importante palmera.

Se han desarrollado técnicas de polinización controlada para especies de palmeras como, *Coccoloba nucifera*, *Elaeis guianensis* y *Bactris gasipaes* (Mora, 1980). En el caso de *Mauritia flexuosa*, Storti, 1993, aplicó polen directamente a la superficie del estigma obteniendo 80% de producción de frutos, y un 14% en condiciones naturales. Freitas *et al.* (2010), aplicando polinización a las flores de raquillas aisladas (embolsadas) obtuvo 54% de frutos iniciales y 14.5% en condiciones naturales.

Las técnicas preliminares de polinización controlada desarrolladas para *M. flexuosa*, constituyen una buena alternativa para obtener mayor producción de frutos, sin embargo, estas técnicas aun necesitan ser mejoradas. En este contexto la investigación tuvo como objetivos determinar y comparar la producción de frutos aplicando polinización controlada con dos tipos de conservación de polen, dos frecuencias de aplicación y dos períodos de desembolso.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se efectuó en 4 plantas adultas de *Mauritia flexuosa* (3 pistiladas y 1 estaminada), ubicadas en zonas adyacentes a la ciudad de Iquitos cuyas coordenadas geográficas UTM son, 0688280 N - 9582810 E. El clima de la zona se caracteriza por ser húmedo tropical, con una temperatura media de 26 °C; la precipitación promedio mensual y anual es de 257 mm y 3087 mm respectivamente. El período de estudio comprende desde el mes de mayo del 2004 hasta julio del 2005.

Para la colecta de polen se aislaron las raquillas con flores estaminadas, introduciéndolas en bolsas de tela

“Dril”, 10 días antes del inicio de la antesis. La colecta procedió cuando las raquillas presentaban aproximadamente 2/3 de flores en antesis. El polen colectado fue acondicionado de la siguiente manera: Polen fresco, conservado a temperatura de 8 °C y polen deshidratado o seco, conservado a -8 °C, estas muestras fueron sometidas a pruebas de viabilidad dos a tres horas después de la colecta (polen fresco), antes de usar el polen y cada 15 días por un período de 60 días; adaptación de la técnica empleada por Arnaud (1971) sobre métodos de cosecha y acondicionamientos más convenientes del polen de la palma aceitera (*Elaeis guianensis*).

El medio de cultivo utilizado en las pruebas de viabilidad consistió en 10% de azúcar común, 0.01 g de ácido bórico, 0.03 g nitrato de calcio en 100 ml de agua destilada, esta técnica fue empleada por Huguenot (1980) en el cultivo de palma aceitera. Los granos de polen fueron sembrados en la superficie de un portaobjeto, en una muestra de 500 granos con tres réplicas por muestra colectada, se contaron y registraron la cantidad de granos que lograron formar tubo polínico, los cuales fueron considerados como viables.

En cada planta pistilada para pruebas de polinización controlada, se seleccionaron tres inflorescencias y en cada una de ellas 8 raquillas, cada raquilla constituye un tratamiento de polinización; adicionalmente se marcaron 8 raquillas para el estudio de polinización natural.

Las raquillas fueron aisladas mediante embolsado aproximadamente 10 días previos a la antesis, previo conteo de flores. La carga polínica empleada consistió en una mezcla de talco y polen en una proporción de 2:1. En tratamientos con una sola frecuencia se aplicó la carga en un solo día (2 g talco + 1 g polen); en tratamientos que incluían dos frecuencias de aplicación, la carga se fraccionó, aplicándose sucesivamente en dos días la mezcla de 1 g de talco + 0.5 g de polen por día. La técnica empleada es una adaptación de los trabajos realizados por Huguenot (1980), en el cultivo de palma aceitera.

Para aplicar la carga polínica se hicieron incisiones en la bolsa aislante para introducir la punta del pulverizador, al cual se presionó repetidamente tratando de que la polinización sea homogénea en todas las flores; finalmente se cerraron los agujeros con cinta adhesiva.

Después del desembolso, se registró el número de frutos iniciales, estos fueron monitoreados hasta su maduración y registrados como frutos finales (cosechados). El porcentaje de frutos iniciales y finales obtenidos, se calculó en relación al número de flores aisladas.

Para el experimento se utilizó el Diseño Irrestringidamente al Azar, mediante un arreglo trifactorial con tres repeticiones y ocho tratamientos (Tabla 1). En el experimento se consideraron los niveles y factores siguientes:

Niveles del Factor A: Tipo de polen.

a1 = Polen seco en estufa conservado a -8 °C.

a2 = Polen fresco refrigerado a 8 °C.

Niveles del Factor B: Frecuencias de aplicación de polen.

b1 = Una aplicación de la mezcla polen + talco, en un día

b2 = Dos aplicaciones de la mezcla polen + talco en días consecutivos

Niveles del Factor C: Días de desembolso

c1 = Desembolso a los 7 días posteriores a la polinización controlada.

c2 = Desembolso a los 14 días posteriores a la polinización controlada.

El procesamiento de la información fue realizada mediante el Paquete Estadístico SPSS (Statistical Package for Social Science). Las variables consideradas en el estudio fueron analizadas mediante el modelo estadístico de Análisis de Varianza, utilizando la Prueba de Rangos Múltiple de Duncan (0.05%), para medir las diferencias significativas, que reportaron las fuentes de variación.

Tabla 1. Tratamientos del diseño experimental irrestringidamente al azar, aplicado al estudio de polinización controlada de *Mauritia flexuosa* L.f

| TRATAMIENTOS | CLAVE | DESCRIPCIÓN |
|--------------|--------|---|
| t1 | a1b1c1 | Polen seco + 1 aplicación + 7 días desembolso |
| t2 | a1b1c2 | Polen seco + 1 aplicación + 14 días desembolso |
| t3 | a1b2c1 | Polen seco + 2 aplicaciones + 7 días desembolso |
| t4 | a1b2c2 | Polen seco + 2 aplicaciones + 14 días desembolso |
| t5 | a2b1c1 | Polen refrigerado + 1 aplicación + 7 días desembolso |
| t6 | a2b1c2 | Polen refrigerado + 1 aplicación + 14 días desembolso |
| t7 | a2b2c1 | Polen refrigerado + 2 aplicaciones + 7 días desembolso |
| t8 | a2b2c2 | Polen refrigerado + 2 aplicaciones + 14 días desembolso |

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VIABILIDAD DEL POLEN

El porcentaje de viabilidad inicial del polen fresco varió entre 68.6% y 77.4% y un promedio de 70%. Las muestras conservadas a 8 °C presentan una viabilidad ligeramente superior a las conservadas a -8 °C, y en ambos casos hasta los 30 días mantienen niveles aceptables de viabilidad, superiores a 40% (Figura 1).

Los valores de fertilidad de los granos de polen del aguaje son relativamente altos, después de dos horas de expuesta la flor apenas el 7% de granos de polen presentan respiración protoplasmática a pesar de poseer el 79% de contenido protoplasmático (Storti, 1993).

Los valores de viabilidad del polen usados en las pruebas de polinización controlada variaron entre 52% a 66% para el polen deshidratado o seco conservado a -8 °C, y de 55% a 70%, para la muestra de polen fresco conservado a temperatura de 8 °C.

PORCENTAJE DE FRUTOS INICIALES

Los resultados del análisis de variancia del porcentaje de frutos iniciales, indicó que el factor período de desembolso y los tratamientos de polinización controlada resultaron ser altamente significativos.

En la Tabla 2, se presenta los resultados de la prueba de Duncan (0.05%) referidos al porcentaje inicial de frutos obtenidos mediante efectos de polinización

controlada del aguaje. Se muestra la presencia de tres grupos estadísticamente homogéneos entre sí, pero que presentan diferencias estadísticas entre ellos. El primer grupo está formado por cuatro tratamientos: Polen seco + 2 frecuencias de aplicación + desembolso a 7 días (T3), Polen fresco + 1 frecuencia de aplicación + desembolso a 7 días (T5), Polen fresco + 2 frecuencias de aplicación + desembolso a 7 días (T7) y Polen seco + 1 frecuencia de aplicación + desembolso a 7 días (T1). En este grupo, se presentan los valores más altos, donde destaca el T3 con 29,72%.

Por otro lado, se diferencia la existencia de dos tratamientos de comportamiento intermedio entre los grupos estadísticos b y c, pero que presentan valores promedios menores que el primer grupo.

El análisis mediante la prueba estadística de Duncan (0.05%) referido a los datos reportados por los tratamientos estudiados con el Factor C (Período de desembolso), muestra que el Nivel C1 (desembolso a 7 días) resultó ser más eficiente en la producción de frutos iniciales (Tabla 3), demostrando su influencia en la producción de frutos en comparación con el nivel C2 (desembolso a 14 días), se ha observado que cuanto mayor sea la duración del embolsado, los frutos tienden a caer. Independiente al tipo de polen (fresco o seco) y al número de aplicaciones (1 ó 2), los mejores resultados se obtienen al desembolsar las raquillas después de 7 días de aplicada la polinización.

PORCENTAJE DE FRUTOS FINALES

Los resultados del análisis de varianza del porcentaje final de frutos obtenidos, indicó que sólo el factor frecuencia de aplicación del polen, resultó significativo.

El análisis mediante la prueba de Duncan (0.05%) sobre el porcentaje de frutos finales, muestra que los tratamientos no difieren estadísticamente, es decir que los ocho tratamientos aplicados con sus interacciones presentaron comportamiento homogéneo en la producción cuantitativa de frutos de aguaje (Tabla 4). El promedio porcentual más alto de frutos finales obtenidos presentó el tratamiento con polen seco + 2 aplicaciones + 7 días desembolso (T3), con 13.39% y el más bajo el tratamiento con Polen refrigerado + 1 aplicación + 14 días desembolso (T6), con 10.61%.

Los resultados de la prueba de Duncan (0.05%) analizando el factor frecuencia de aplicación de polen (Tabla 5), muestran que existe significancia estadística en el nivel b2 (dos aplicaciones) el cual resultó ser más productivo en comparación con el nivel b1 (una aplicación).

La maduración y apertura de flores en el aguaje ocurre de manera progresiva; por lo tanto, si aplicamos la polinización en dos períodos, se podría hacer más

eficiente la producción de frutos. En *Eucaliptus sp*, los estigmas permanecen receptivos por un período variable de 4 a 10 días, por esta razón en cruzamientos interespecíficos aplican la polinización de 4 a 5 oportunidades para asegurar la fertilización, (Botto, 1979).

Mora & Solis (1980) refieren que para polinizar *Bactris gasipaes* (Pejibaye), es suficiente una sola aplicación de polen, puesto que la antesis de todas las flores femeninas de una inflorescencia ocurre en un mismo momento; pero en la palmera del Coco las flores femeninas maduran en forma progresiva; por lo que es necesario polinizar cada una en forma individual o efectuar repetidamente la polinización a la inflorescencia.

Los resultados muestran que se obtiene un mayor número de frutos inmaduros inicialmente que frutos maduros finales, esto demuestra que no es la receptividad del estigma en la polinización y que más bien es en el desarrollo del fruto donde existe una alta tasa de pérdidas, lo cual es controlado por un balance hormonal entre el ácido abscísico producido por la planta y los ácidos ANA y AIA producidos por la semilla que compiten por mantener el flujo de fotosintatos (Cortés, 1980). Se hace evidente que es necesario mantener el nivel óptimo de uso de polen.

La localización del ácido abscísico en la planta está en las hojas, tallos, frutos verdes y semillas; y que estimula el cierre estomático, participa en respuestas al estrés ambiental e inhibe la germinación (Cortés, 1980). La abscisión de hojas, flores y frutos está controlada en parte por auxinas, así mismo el desarrollo de frutos a partir de los ovarios de las flores y la maduración de los óvulos en semillas maduras después de la fecundación están controlados en parte también por las auxinas (Cortés, 1980).

Los valores porcentuales del número de frutos iniciales obtenidos en el estudio de polinización natural variaron entre 8.4% y 26.22%, con un promedio de 17.16%, estos resultados son inferiores a los obtenidos en el estudio de polinización controlada comparando con los valores obtenidos en cada tratamiento, los cuales varían entre 19.73% a 29.72% (Tabla 2).

Se ha comprobado la eficiencia de la polinización controlada, así, Storti (1993) obtuvo un 80% de producción de frutos en condiciones artificiales, al aplicar polen directamente a la superficie del estigma de la flor femenina receptiva; mientras que en condiciones naturales solamente obtuvo el 14% de producción de frutos. Freitas *et al.* (2010), aplicando polinización a las flores de raquillas aisladas (embolsadas) obtuvo 54% de frutos iniciales y 14.5% en condiciones naturales.

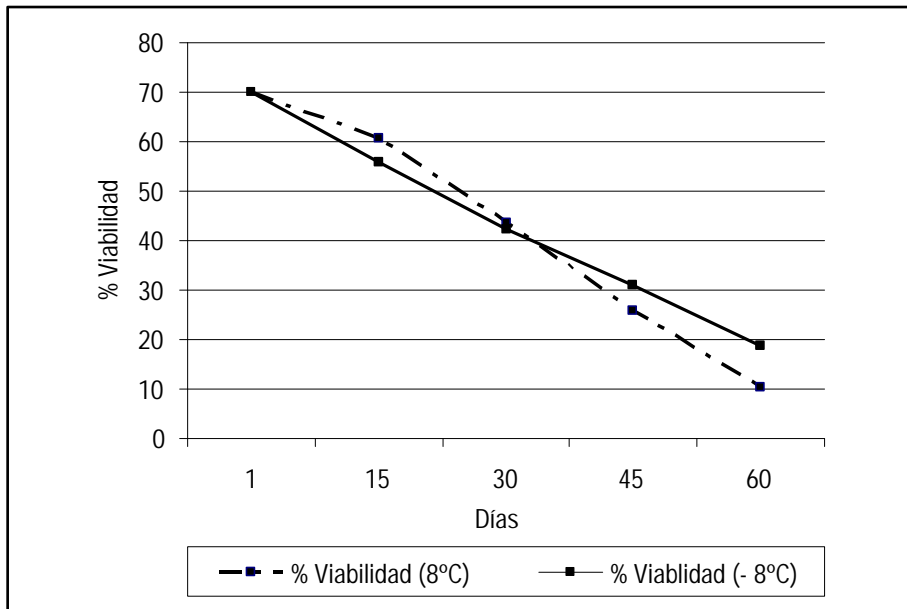


Figura 1. Variación del porcentaje de viabilidad del polen de *Mauritia flexuosa* en un periodo de 60 días.

Tabla 2. Prueba estadística de Duncan (0.05%) de tratamientos para el porcentaje de frutos iniciales de *Mauritia flexuosa*.

| O M | TRATAMIENTO | | PROM % F.I. | SIGNIF. * |
|-----|-------------|--|----------------|--------------|
| | CLAVE | DESCRIPCIÓN | | |
| 01 | T3 | Polen seco + 2 aplicaciones + desembolso a 7 días | 29.72 | a |
| 02 | T5 | Polen fresco + 1 aplicación + desembolso a 7 días | 29.38 | a |
| 03 | T7 | Polen fresco + 2 aplicaciones + desembolso a 7 días | 29.18 | a |
| 04 | T1 | Polen seco + 1 aplicaciones + desembolso a 7 días | 28.04 | a |
| 05 | T4 | Polen seco + 2 aplicaciones + desembolso a 14 días | 23.45 | b |
| 06 | T8 | Polen fresco + 2 aplicaciones + desembolso a 14 días | 22.55 | b c |
| 07 | T2 | Polen seco + 1 aplicación + desembolso a 14 días | 20.19 | b c |
| 08 | T6 | Polen fresco + 1 aplicación + desembolso a 14 días | 19.73 | c |

Tabla 3. Prueba estadística de Duncan (0.05%) para el porcentaje de frutos iniciales de *Mauritia flexuosa* con el factor periodo de desembolso.

| O M | TRATAMIENTO | | PROM % F.I. | SIGNIF. * |
|-----|-------------|----------------------|----------------|--------------|
| | CLAVE | DESCRIPCIÓN | | |
| 01 | C1 | Desembolso a 7 días | 348.89 | A |
| 02 | C2 | Desembolso a 14 días | 257.71 | b |

Tabla 4. Prueba estadística de Duncan (0.05%) de tratamientos para el porcentaje de frutos finales de *Mauritia flexuosa*.

| O M | TRATAMIENTO | | PROM % F.I. | SIGNIF. * |
|-----|-------------|--|----------------|--------------|
| | CLAVE | DESCRIPCIÓN | | |
| 01 | T3 | Polen seco + 2 aplicaciones + desembolso a 7 días | 13.39 | a |
| 02 | T4 | Polen seco + 2 aplicaciones + desembolso a 14 días | 12.96 | a |
| 03 | T7 | Polen fresco + 2 aplicaciones + desembolso a 7 días | 12.68 | a |
| 04 | T8 | Polen fresco + 2 aplicaciones + desembolso a 14 días | 12.55 | a |
| 05 | T5 | Polen fresco + 1 aplicación + desembolso a 7 días | 11.62 | a |
| 06 | T2 | Polen seco + 1 aplicación + desembolso a 14 días | 11.33 | a |
| 07 | T1 | Polen seco + 1 aplicación + desembolso a 7 días | 10.62 | a |
| 08 | T6 | Polen fresco + 1 aplicación + desembolso a 14 días | 10.61 | a |

Tabla 5. Prueba estadística de Duncan (0.05%) para el porcentaje de frutos finales de *Mauritia flexuosa* con el factor frecuencia de aplicación de polen.

| O M | TRATAMIENTO | | PROM % F.I. | SIGNIF. * |
|-----|-------------|------------------|----------------|--------------|
| | CLAVE | DESCRIPCIÓN | | |
| 01 | b2 | Dos aplicaciones | 154.73 | a |
| 02 | b1 | Una aplicación | 132.49 | b |

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Arnaud, F. 1971. Polinización asistida en plantaciones de palma aceitera. *Oléagineux*, Vol. 34 (4): 234-249.
- Botto, V.O. 1997. Cruzamientos interespecíficos de *Eucalyptus sp.* (www.Fao.org/forestry/docrep/wfcxi/publi/v8/...v8s_e5.htm). Acceso: 14/10/2011.
- Cortés, F. 1980. *Histología Vegetal Básica*. Editorial H. Blume, Madrid, 125 pp.
- Delgado, C.; Couturier, G.; Mejía, K. 2007. *Mauritia flexuosa* (Arecaceae: calamoideae), an Amazonian Palm with cultivation purposes in Perú. *Fruits*, 62 (3): 157-169.
- Del Castillo D.; Otárola, E.; Freitas, L. 2006. Aguaje, la maravillosa palmera de la Amazonía Peruana. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. 51 pp.
- Freitas, L.; Mejía K.; Vásquez, J.; Del Castillo, D. 2010. Polinización controlada en *Mauritia flexuosa* L. f., aguaje, en la Amazonía Peruana. *Paradigmas*, volumen 9, N° 14. pp 117-124.
- Huguenot, R. 1980. Manual de técnicas agrícolas del cultivo de palma aceitera en Tocache. ENDEPALMA; T:R:H:Q. Francia, 82-97 p.
- Mora, J.; Solís, M. 1980. Polinización en *Bactris gasipaes* H.B.K. (Palmae). *Rev. Biología Tropical* 28 (1): 153-174.
- Rojas, R.; Ruíz, G.; Ramírez, P.; Salazar, C.; Rengifo, C.; Llerena, C., Marín, C.; Torres, D.; Ojanama, J.; Silvano, W.; Muñoz, V.; Luque, H.; Vela, N.; Del Castillo, N.; Solinac, J.; López, V.; Pandero, F. 2001. Comercialización de masa y "fruto verde de aguaje" *Mauritia flexuosa* L.f. en Iquitos Perú. *Folia Amazónica*, 12 (1-2): 15-38.
- Storti, E. 1993. Biología floral de *Mauritia flexuosa* Lin. Fil. Na regio de Manaus, am, Brasil. *Acta Amazónica* 23(4): 371-381.
- Vasquez, P. 2010. Chemical characterization and oxidative stability of the oils from three morphotypes of *Mauritia flexuosa* L.f., from the Peruvian Amazon. *Grasas y aceites*: 61 (4): 390-397.